

Silicium Nanodröhte für die extrazelluläre Ableitung elektrischer Aktivität

Jan Felix Eschermann

Forschungszentrum Jülich GmbH
Institut für Bio- und Nanosysteme (IBN)
Bioelektronik (IBN-2)

Silicium Nanodrähte für die extrazelluläre Ableitung elektrischer Aktivität

Jan Felix Eschermann

Schriften des Forschungszentrums Jülich
Reihe Gesundheit / Health

Band / Volume 28

ISSN 1866-1785

ISBN 978-3-89336-639-2

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek.
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der
Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte Bibliografische Daten
sind im Internet über <<http://dnb.d-nb.de>> abrufbar.

Herausgeber und Vertrieb: Forschungszentrum Jülich GmbH
Zentralbibliothek, Verlag
D-52425 Jülich
Telefon (02461) 61-5368 · Telefax (02461) 61-6103
e-mail: zb-publikation@fz-juelich.de
Internet: <http://www.fz-juelich.de/zb>

Umschlaggestaltung: Grafische Medien, Forschungszentrum Jülich GmbH

Druck: Grafische Medien, Forschungszentrum Jülich GmbH

Copyright: Forschungszentrum Jülich 2010

Schriften des Forschungszentrums Jülich
Reihe Gesundheit / Health Band / Volume 28

D 82 (Diss. RWTH Aachen, Univ., 2010)

ISSN 1866-1785

ISBN: 978-3-89336-639-2

Vollständig frei verfügbar im Internet auf dem Jülicher Open Access Server (JUWEL)
unter <http://www.fz-juelich.de/zb/juwel>

Alle Rechte vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (Druck, Fotokopie oder in einem anderen Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

There is plenty of room at the bottom.

(Richard P. Feynman, amerikanischer Physiker, 1918 - 1988)

Vorwort

„Nanotechnologie gilt als Zukunftstechnologie schlechthin.“ Mit diesem Satz beginnt eine Einführung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung zu diesem Thema. Die Frage, „Was aber genau verspricht diese Technologie?“, beschäftigt jedoch nicht nur die Wissenschaft. Längst ist die Silbe „Nano“ zu einem Begriff geworden, der Produkte, wie etwa mp3-Player, schmückt und in den Medien verarbeitet wird. Der Spiegel hat beispielsweise auf seiner Web-Seite einen eigenen Themenbereich dazu eingerichtet. Auch die Neurowissenschaften sind ein ähnlich populäres Feld, weil die Einblicke in das menschliche Denken einerseits faszinieren, aber auch gruselige Assoziationen hervorrufen.

Als Wissenschaftler in einem solchen Spannungsfeld arbeiten zu können, ist der Traum vieler Menschen. Selten kann eine Forschungseinrichtung sowohl die technischen Möglichkeiten für die Herstellung nanostrukturierter elektronischer Bauelemente, als auch Labore für Experimente mit lebenden Zellen unter einem Dach bereitstellen. Am Institut für Bio- und Nanosysteme 2 (IBN2) des Forschungszentrums Jülich war diese außergewöhnliche Infrastruktur vorhanden, die das Arbeiten dort zu einer herausfordernden und bereichernden Erfahrung werden ließ.

Ich empfinde große Dankbarkeit für diese Gelegenheit. Höchster Dank gilt Professor Dr. Andreas Offenhäusser, Direktor des IBN2. Sein Vertrauen und seine Unterstützung haben zum Gelingen dieser Arbeit entscheidend beigetragen. Insbesondere in der Endphase hat eine Vielzahl von Diskussionen beim letzten Feinschliff geholfen. Daneben danke ich Professor Dr. Sven Ingebrandt, der mein Projekt am Anfang betreute, für seine fachliche und menschliche Unterstützung. Auch meinem Doktorvater, Professor Dr. Wilfried Mokwa, danke ich für die Möglichkeit, an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen zu promovieren. Ohne sein Interesse an meinem Thema, sowie seine Hilfe bei der Abwicklung des Promotionsverfahrens wäre dies alles nicht möglich gewesen. Schließlich bin ich auch meinen Kollegen für ihre Hilfe und die vielen schönen Momente äußerst dankbar.

Kurzfassung

Nanodrähte aus Silicium werden in der jüngsten Zeit als Biosensoren für die Detektion von Molekülen wie DNA oder Proteinen, sowie Antigenen und Viren erforscht. Sie weisen hier eine erhöhte Empfindlichkeit, d.h. niedrigere Nachweisgrenzen auf. In ersten Publikationen wurde gezeigt, dass auch die extrazelluläre Ableitung von elektrischer Aktivität möglich ist. Allerdings lassen diese Veröffentlichungen einige Fragen offen. Beispielsweise sind die Form der Signale und der Kopplungsmechanismus noch ungeklärt. Um diese Punkte vertieft zu untersuchen, wurden in dieser Arbeit Nanodrähte hergestellt und grundlegend charakterisiert.

Die Strukturierung der Nanodrähte erfolgte mit Nanoimprintlithografie und dem anisotropen nasschemischen Ätzen von Silicon-on-Insulator Substraten mit Tetramethylammoniumhydroxid. Durch die Kombination dieser Verfahren konnten eine gute Reproduzierbarkeit, glatte Oberflächen sowie eine hohe Integrationsdichte erreicht werden.

Die elektrischen Charakteristika der Bauelemente ähneln grundsätzlich denen von klassischen Transistoren mit großer Kanallänge. Trotzdem können einige Besonderheiten festgestellt werden: Die Transferkennlinie weist im Unterschwellbereich einen steileren Anstieg auf als bei planaren Transistoren. Das bedeutet, dass die Sensoren auf kleinere Spannungsänderungen an ihrer Oberfläche ansprechen. Gleichzeitig zeigen sie ein geringeres Rauschen. Neben der Drift kann das $1/f$ -Rauschen als dominierender Anteil ausgemacht werden. Durch die Wahl eines geeigneten Modells werden generelle Empfehlungen für den Entwurf solcher Bauelemente abgeleitet, und die Qualität des Gate-Dielektrikums evaluiert.

Bei der Ableitung elektrischer Zellaktivität wird ein besseres Verständnis der Signalform angestrebt. In den bisherigen Veröffentlichungen wurde häufig die Lock-In Technik zur Auslese eingesetzt. Allerdings beinhaltet sie eine Filterung der Signale, so dass es zu Verzerrungen kommt. Eine direkte Abtastung der Signale ermöglichte hingegen eine schlüssige Erklärung anhand der physiologischen Prozesse. Dies

wird in Messungen mit HL-1 Zellen durch den Vergleich mit planaren Transistoren nachgewiesen.

Für die quantitative Untersuchung der Zell-Nanodraht-Kopplung wurde die Transferfunktion zwischen der Spannung im Inneren von HEK293 Zellen, die über eine Patchpipette angelegt wurde, und der im Spalt zwischen Zelle und Nanodraht gemessen. Mittels dieser Ergebnisse ließen sich die Parameter für das Punkt-Kontakt-Modell extrahieren. Es stellte sich heraus, dass die Güte der Kopplung stark von der Geometrie der Sensoren abhängt und längere Nanodrähte günstiger sind. Dieses Ergebnis wurde durch rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen untermauert.

Somit wurde eine Basis für die Anwendung von Silicium Nanodrähten in der (neuro)biologischen Grundlagenforschung geschaffen. Darüber hinaus sind Anwendungen in der Pharmazie oder der Neuroprothetik denkbar.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	ix
Hauptteil	1
1. Einleitung	3
1.1. Motivation	3
1.2. Historische Entwicklung relevanter Wissensgebiete	4
1.2.1. Bis an die Grenzen von Moores Gesetz [1–4]	4
1.2.2. Zelleitungen mit mikrostrukturierten Bauelementen	5
1.2.3. Silicium Nanodrähte als Biosensoren	6
1.3. Aufbau der Arbeit	10
2. Physikalische und biologische Grundlagen	13
2.1. Einleitung	13
2.2. Messtechnik	13
2.2.1. Feldeffekt-Transistoren [35]	13
2.2.2. Signalverstärkung [42]	20
2.3. Rauschen [43]	22
2.3.1. Definition	22
2.3.2. Mathematische Beschreibung	22
2.3.3. Überblick über die beteiligten Rauscharten	26
2.4. Elektrophysiologie und Zell-Transistor-Kopplung	34
2.4.1. Definition und Abgrenzung	34
2.4.2. Elektrisch erregbare Zellen [48]	34
2.4.3. Patch-Clamp-Technik	39
2.4.4. Zell-Transistor-Kopplung	42

Inhaltsverzeichnis

3. Herstellung der Chips	47
3.1. Einleitung	47
3.2. Vom Substrat zur Strukturierung	48
3.2.1. Silicon-on-Insulator Technologie	48
3.2.2. Nanoimprintlithografie	50
3.2.3. Anisotropes Ätzen mit Tetramethylammoniumhydroxid	53
3.3. Integration zu einem vollständigen Prozess	56
3.3.1. Prozessabschnitte	56
3.3.2. Modifikationen	57
3.3.3. Simulation	57
3.4. Layout der Chips	59
3.4.1. Hauptvariante	59
3.4.2. Arrays mit gekreuzten Zuleitungen	61
3.5. Bilder der fertigen NW-Transistoren	63
3.6. Diskussion und Zusammenfassung	64
4. Elektrische Charakterisierung	67
4.1. Einleitung	67
4.2. Messanordnung	68
4.2.1. Experimentelle Situation und Methodik	68
4.2.2. Messbox mit 16 Kanälen	69
4.3. Ergebnisse der Charakterisierung	70
4.3.1. Kennlinien	70
4.3.2. Rauschen und Stabilität	76
4.4. Zusammenfassung	84
5. Messungen mit Zellen	87
5.1. Einleitung	87
5.2. Extrazelluläre Ableitungen von Cardiomyocyten	88
5.2.1. Eigenschaften von HL-1 Zellen	88
5.2.2. Zellkultur und Präparation der Chips	91
5.2.3. Messergebnisse	91
5.2.4. Diskussion	95
5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen	96
5.3.1. Eigenschaften von HEK293 EAG Zellen	96

5.3.2. Messprinzip	97
5.3.3. Durchführung der Transferfunktionsmessungen	100
5.3.4. Elektrische Charakterisierung des Messaufbaus	104
5.3.5. Korrekturverfahren und quantitative Auswertung	107
5.3.6. Ergebnisse der Kopplungsmessungen	110
5.3.7. Elektronenmikroskopische Untersuchung	117
5.3.8. Diskussion	122
5.4. Zusammenfassung	124
6. Zusammenfassung und Ausblick	127
6.1. Zusammenfassung	127
6.2. Ausblick	130
Anhang	133
A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess	135
A.1. Vorbemerkungen	135
A.2. Herstellung des Molds	135
A.3. Prozessabschnitte und Parameter der Einzelschritte	137
A.4. Standardrezepte	139
A.5. Verkapselung	140
A.5.1. Drahtbonden	140
A.5.2. Flip-Chip Verfahren	141
A.6. Quellcode der Prozesssimulation	144
A.7. Geräte, Hilfsmittel und Chemikalien	146
B. Ergänzungen zur elektrischen Charakterisierung	150
B.1. 16-kanalige Messbox	150
B.1.1. Hardware	150
B.1.2. Software	150
B.1.3. Geräte, Hilfsmittel und Software	153
B.2. Herleitungen zu den Rauschmodellen	154
B.2.1. Äquivalente Rauschbandbreite	154
B.2.2. Gatebezogene Rauschleistungsdichten	155

Inhaltsverzeichnis

C. Ergänzungen zu den Zellmessungen	156
C.1. Messaufbau	156
C.1.1. Hardware	156
C.1.2. Software	156
C.2. Chips vom Typ11	159
C.3. Programm für die Auswertung der Transferfunktionen	160
C.4. Biologische Lösungen und Protokolle	161
C.4.1. Vorbehandlung und Reinigung der Chips	161
C.4.2. HL-1 Zellen	163
C.4.3. HEK-Zellen	165
C.4.4. Glutaraldehyd Fixierung	167
C.4.5. Liste der Chemikalien	167
D. Variablen, physikalische Konstanten und Abkürzungen	170
Literaturverzeichnis	175
Danksagung	188

Hauptteil

1. Einleitung

An die Geschichte verweise ich Euch. Forscht in ihrem belehrenden Zusammenhang nach ähnlichen Zeitpunkten und lernt den Zauberstab der Analogie gebrauchen.

(Novalis, deutscher Schriftsteller, 1772 - 1801)

1.1. Motivation

Spätestens in der Aufklärung im 17. und 18. Jahrhundert wurde entdeckt, dass der Körper von allen höheren Lebewesen in funktionale Einheiten, die Organe, gegliedert ist. Diese Erkenntnis hat dazu geführt, dass jeder einzelne dieser Bestandteile genauen Untersuchungen unterzogen wurde. Dabei entwickelte sich nach und nach ein Verständnis für die normale Arbeitsweise, sowie Anomalien, die mit Erkrankungen in Zusammenhang gebracht werden konnten. Dieses Wissen wiederum ermöglichte gezielte Eingriffe, die den Menschen ein gesünderes und längeres Leben verschafften.

Da das Gehirn Sitz des Geistes und des Bewusstseins ist, kommt ihm eine besondere Bedeutung zu. Es übersteigt andere Organe erheblich an Komplexität. Obwohl die Funktion der Nervenzellen grundsätzlich bekannt ist, ergeben sich aus ihrer Vielzahl nahezu unendlich viele Verschaltungsmöglichkeiten. Es ist bei weitem noch nicht verstanden, wie daraus übergeordnete Funktionen entstehen. Die Erforschung des Gehirns findet daher auf unterschiedlichen Hierarchieebenen statt. Bildgebende Verfahren werden beispielsweise eingesetzt, um zu beobachten, welche Regionen bei der Bewältigung bestimmter Aufgaben aktiv sind. Andere Methoden beschäftigen sich mit der Auswertung elektrischer Signale des gesamten Gehirns, von Hirnschnitten oder einigen wenigen Zellen.

Die in dieser Arbeit entwickelte Technologie soll es ermöglichen, kleine neuronale Netzwerke auf der Ebene einzelner Zellen zu untersuchen. Damit würden sich

1. Einleitung

elementare Vorgänge, wie beispielsweise Lernen oder Verarbeitung von Stimuli, in Echtzeit und über einen längeren Zeitraum erforschen lassen. Die so gewonnenen Erkenntnisse würden wiederum zum besseren Verständnis komplexerer Hirnfunktionen beitragen. Neben der Befriedigung der menschlichen Neugier könnten mit diesem Wissen Systeme zur direkten Steuerung von Prothesen oder Maschinen mit Gedanken entwickelt werden. Auch könnten bei der Therapie von Hirnerkrankungen wie Epilepsie, Parkinson oder Alzheimer Fortschritte gemacht werden.

Im Weiteren wird nun ein Überblick über die Vorläufer dieser Arbeit gegeben. So lassen sich grundlegende Konzepte und der geschichtliche Kontext besser verstehen.

1.2. Historische Entwicklung relevanter Wissensgebiete

1.2.1. Bis an die Grenzen von Moores Gesetz [1–4]

Seit der Entwicklung des ersten *Transistors* im Jahre 1947 durch Shockley, Bardeen und Brittain und der Erfindung des *integrierten Schaltkreises* durch Kilby im Jahre 1958 hat die Halbleitertechnologie unser Leben in einem unvergleichlichen Siegeszug geprägt. Schon zu Beginn dieser Entwicklung beobachtete der Mitbegründer von Intel, Gordon E. Moore, den zeitlich exponentiellen Anstieg der Anzahl von Transistoren pro Schaltkreis und formulierte 1965 sein berühmtes Gesetz [5].

Voraussetzung dafür, dass dieses Gesetz bis heute Bestand haben konnte, war vor allem die stetige Miniaturisierung der Strukturen auf den Chips. Lange Zeit konnte dies vor allem durch die Verfeinerung der Herstellungsverfahren erreicht werden. Inzwischen sind aber die Abmessungen bei den Transistoren so klein geworden, dass so genannte *Kurzkanaleffekte* (engl. *engl. short channel effects*) zunehmend zum Problem werden. Ohne auf physikalische Details einzugehen, führen diese dazu, dass sich Transistoren nicht mehr oder nur mit höheren Spannungen abschalten lassen. Dies ist unter anderem problematisch, weil es die Verlustleistung ansteigen lässt, was abgesehen von ökologischen und ökonomischen Gesichtspunkten zu einer Zerstörung der Bauelemente durch zu starke Erwärmung führen kann.

Um diese Nachteile der Miniaturisierung auszugleichen, wurden von vielen Forschern dreidimensionale Strukturen vorgeschlagen. Dadurch ist eine Kontrolle des Kanals von allen Seiten möglich, was die oben genannten Effekte abmildern soll [6].

1.2. Historische Entwicklung relevanter Wissensgebiete

Unter den vorgeschlagenen Strukturen befinden sich auch *Silicium Nanodrähte* (engl. *nanowires*, *NWs*). Aufgrund der Tatsache, dass sie eine hohe Kompatibilität zu der bestehenden CMOS-Technologie aufweisen, betrachtet die Ausgabe der bedeutendsten internationalen Studie zur Zukunft der Halbleitertechnologie, der *International Technology Roadmap for Semiconductors*, aus dem Jahr 2005 sie als potentielle Nachfolger aktueller Logikkomponenten [7]. Die vielversprechenden Forschungsergebnisse auf diesem Gebiet beeinflussten auch die Entwicklung von Biosensoren.

1.2.2. Zelleitungen mit mikrostrukturierten Bauelementen

Seit bekannt ist, dass elektrische Vorgänge an der Informationsverarbeitung in Nervenzellen beteiligt sind, wurden elektrische Messungen im Gewebe oder an einzelnen Zellen durchgeführt mit dem fernen Ziel, die Geheimnisse des menschlichen Bewusstseins zu lüften. Um die örtliche Auflösung zu verbessern, entwickelte man in den 1950er Jahren einzelne Mikroelektroden, die aus Draht zu dünnen Spitzen ausgezogen wurden. Sie ließen sich mit entsprechenden Manipulatoren genau positionieren. Allerdings war der experimentelle Aufwand erheblich [8], da jede Elektrode einzeln platziert werden musste. Dies schränkte deren Anzahl stark ein. Ferner mussten die kleinen Signale über lange Leitungen zum Verstärker geführt werden. Wegen der hohen Impedanz der Elektroden machte dies die Messungen anfällig für Störungen. Die aufwendige Positionierung ließ sich durch die Integration von vielen solchen Elektroden auf Glas [9–12] oder Silicium [13, 14] vermeiden. Man suchte sich aus einer Vielzahl von Elektroden diejenigen, die das stärkste Signal aufwiesen. Dennoch blieb das Problem der Einkopplung von Störungen.

Durch aktive Bauelemente, die das Elektrodensignal direkt am Ort der Messung verstärkten, konnte auch dies verbessert werden. Bergveld [15], Wise [16] und Jobling [8] waren seit Ende der 60er Jahre des vergangenen Jahrhunderts Pioniere auf diesem Gebiet. Mit der Verfügbarkeit von verbesserten Sensorelementen wuchs auch das Verständnis für die physikalischen Mechanismen, die der Kopplung zwischen Zelle und Elektronik [17, 18] zu Grunde liegen. Seitdem hat sich die extrazelluläre Ableitung als Ergänzung der klassischen elektrophysiologischen Methoden etabliert und wurde stetig weiterentwickelt.

1. Einleitung

1.2.3. Silicium Nanodrähte als Biosensoren

Pionierarbeit

Wie bereits erwähnt, werden Silicium Nanodrähte (NWs) seit geraumer Zeit erforscht, um die stetige Miniaturisierung der Computerchips am Leben zu erhalten. Ähnlich wie bei den gewöhnlichen Feldeffekttransistoren wurde ihr Potential für die Biosensorik schon bald erkannt. Die verbesserte Kontrolle über den dreidimensionalen Kanal verspricht eine höhere Empfindlichkeit gegenüber Veränderungen des *Oberflächenpotentials*. Diese werden beispielsweise durch geladene Moleküle (*Desoxyribonucleinsäure* (DNS) oder Proteine) hervorgerufen, die auf diese Weise detektiert werden können.

Die Ersten, die das im Experiment demonstrierten, waren Wissenschaftler um Charles W. Lieber von der Harvard Universität. In den ersten Experimenten wurde eine Abhängigkeit des Stroms durch die NWs vom pH-Wert, der Konzentration von H_3O^+ -Ionen, beobachtet [19]. Ebenso konnte die Bindung von Streptavidin oder Antibiotin an Biotin, das an der Oberfläche der NW immobilisiert worden war, beziehungsweise die Bindung von Calcium(II)-Ionen an immobilisiertes Calmodulin den Strom beeinflussen. Negativ geladenes Streptavidin führte zu einem Anstieg und positiv geladenes Antibiotin bzw. Calcium-(II)-Ionen zu einem Abfall. Dies zeigte, dass die Stromdichte in den Bor dotierten NWs durch die Ladungen der Moleküle verändert wurde. Die Wissenschaftler konnten das Biotin bis zu einer Konzentration von circa 10 pmol/l in der Lösung nachweisen, was einer Verbesserung um den Faktor 10 bis 100 im Vergleich zu bisherigen Sensoren entsprach [19]. Später zeigte die gleiche Gruppe, dass die Detektion von DNS [20], einzelnen Viren [21], Krebsmarkern [22] und weiteren kleinen Moleküle [23] ebenfalls möglich ist.

Schon zu Beginn dieser Erfolgsserie merkten Klemic, Stern und Reed [24] von der Yale Universität an, dass NWs zwar eine attraktive Möglichkeit für die Untersuchung molekularer Prozesse und die Messung von elektrischer Zellaktivität darstellen, bezweifelten aber, dass eine hohe Integration und ein grundlegendes physikalisches Verständnis mit der Herstellungsmethode Liebers möglich sei. Statt einzelne NWs auf dem Substrat zu kontaktieren, ätzten sie die NWs in das Substrat. Diese wiesen eine sehr glatte Oberfläche und niedrige Anzahl an Kristallfehlern auf, so dass ebenfalls sehr empfindliche Messungen möglich waren [25]. Es konnte er-

1.2. Historische Entwicklung relevanter Wissensgebiete

neut die pH-Empfindlichkeit beobachtet werden. Außerdem gelang der Nachweis, dass NWs mit kleinerem Durchmesser mit einer größeren Stromänderung pro pH-Änderung reagierten. Nasschemisch geätzte NWs schnitten in diesen Versuchen im Vergleich zu Plasma geätzten Strukturen deutlich besser ab. Die Detektionsgrenze bei der Bindung von Biotin an Streptavidin bzw. Avidin wurde noch weiter auf 10 fmol/l gesenkt.

Unterschiedliche Paradigmen bei der Herstellung

Diese beiden Arbeiten zeigen exemplarisch zwei gegensätzliche Herangehensweisen zur Herstellung der Strukturen, die sich in der Nanotechnologie oft finden lassen: Die einzelnen funktionalen Einheiten können entweder getrennt hergestellt und durch Selbstorganisation zu größeren Systemen angeordnet werden oder direkt aus einem makroskopischen Werkstück (z.B. Wafer) zusammen mit allen anderen Komponenten des Systems gefertigt werden. Im ersten Fall spricht man von „bottom-up“-Fabrikation. Die meisten Gruppen haben zuletzt die zweite, „top-down“-Fabrikation genannte Methode, benutzt, um Biosensoren herzustellen, da sie einfacher in etablierte Reinraumprozesse zu integrieren ist.

Inzwischen gibt es hierzu zu viele Publikationen, um auf alle einzeln einzugehen. Einige sollen aber trotzdem exemplarisch genannt werden, um die Vielfalt der unterschiedlichen Ansätze zu verdeutlichen: A. Kim et al. stellten NW-Transistoren mit Elektronenstrahl-Lithografie und einem nicht näher spezifizierten Ätzverfahren her, mit denen sie das prostataspezifische Antigen (PSA) bis zu einer Konzentration von 30 amol/l detektierten [26]. Ein neuer Rekord bei der Empfindlichkeit. Gao et al. publizierten ein Verfahren, um mit selbstlimitierender Oxidation sehr kleine NWs (Durchmesser 5 nm - 50 nm) zu produzieren [27]. Sie erzielten damit für DNS eine Detektionsgrenze von 10 fmol/l. Park et al. integrierten NW-Sensoren auf Mikronadeln, um sie damit in Zellen einzuführen [28]. In diesem ambitionierten Projekt soll so der intrazelluläre Stoffwechsel untersucht werden.

Bei den NW-Biosensoren handelt es sich also um ein sehr dynamisches und innovatives Feld, in dem viele unterschiedliche Ideen konkurrieren. Die grundlegende Arbeit von Cui et al. [19] wurde im Jahr 2003 110 mal zitiert. Diese Zahl stieg seit dem jährlich um durchschnittlich 25 %.

1. Einleitung

Zellableitungen

Viele Gruppen sind inzwischen weltweit in der Lage, NW-Bauelemente herzustellen und erfolgreich in der biomolekularen Sensorik einzusetzen. Die Messung von Zellsignalen stellt höhere Anforderungen an die Technologie: Die Verkapselung der Chips muss biokompatibel und zugleich über längere Zeit chemisch und mechanisch stabil sein, so dass Zellen über mehrere Tage kultiviert werden können. Das Auslesen der Signale muss mit einer Abtastrate von mindestens 3 kHz erfolgen. Es müssen geeignete Labors für die Arbeit mit Zellen existieren, und elektrophysiologische Versuchsaapparaturen zur Verfügung stehen, um die gemessenen Daten zu verifizieren. Dementsprechend gibt es zu diesem Thema wesentlich weniger Veröffentlichungen.

Erneut stammt die erste Publikation aus der Arbeitsgruppe von Charles W. Lieber. Patolsky et al. zeigten in einer umfassenden Publikation eine Vielzahl von möglichen Interaktionsformen zwischen NWs und Nervenzellen von Ratten [29]. Es gelang ihnen, *Neuriten*, d.h. Fortsätze der Nervenzellen, mit Hilfe einer photolithografisch strukturierten Schicht aus dem Protein *Poly-L-Lysin* (*PLL*) über verschiedene Anordnungen von NWs wachsen zu lassen. Die Zellen wurden mit der *Patch-Clamp-Technik* intrazellulär stimuliert. Die induzierten Aktionspotentiale führten an den NWs zu einer lokalen Veränderung des Oberflächenpotentials, was sich in einem veränderten Leitwert niederschlug. In einem Experiment konnte gezeigt werden, dass nur an den NWs ein Signal zu messen war, die tatsächlich mit Neuriten bedeckt waren. Dieses Kontrollexperiment belegte, dass es sich um einen spezifischen Effekt handelte und kein *Übersprechen* auftrat. Ferner wurde demonstriert, dass die passive Antwort einer Zelle, die mit einem NW extrazellulär durch einen Spannungspuls an einem ihrer Neuriten ausgelöst wurde, auch an den anderen von diesem Neuriten bedeckten NWs gemessen werden konnte. Eine passive kapazitive Stimulation mit den NWs war demnach ebenfalls möglich. In einer anderen Konfiguration kreuzte ein Axon mehrere (bis zu 150) NWs. In einer Reihe von Messungen konnte die Laufzeit des Signals bis zu dem jeweiligen NW bestimmt werden, was eine direkte Bestimmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit ermöglichte. Das Ergebnis stimmte gut mit den bekannten Werten überein. Durch Anlegen eines Spannungspulses an einem der NWs konnte die Propagation des Aktionspotentials außerdem gezielt verhindert werden. Das heißt, die NWs konnten

1.2. Historische Entwicklung relevanter Wissensgebiete

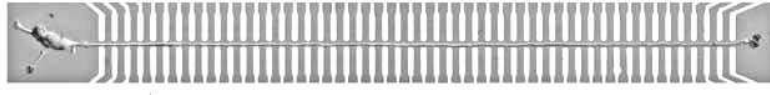


Abbildung 1.1.: Das Axon eines Rattenneurons kreuzt 50 Silicium Nanodrähte, von denen nur die Zuleitungen ober- und unterhalb zu sehen sind. Das Bild stammt aus der bahnbrechenden Publikation „Detection, Stimulation, and Inhibition of Neuronal Signals with High-Density Nanowire Transistor Arrays“ aus dem Jahr 2007 [29]. Der Abdruck erfolgt mit freundlicher Genehmigung durch den Verlag.

sowohl zur Detektion, als auch zur aktiven Beeinflussung der neuronalen Aktivität eingesetzt werden, was die Autoren als „künstliche Synapse“ bezeichneten. Allerdings blieb der genaue Mechanismus unklar und einige andere Ungereimtheiten, unter anderem die außergewöhnlich große Signalamplitude und die Form der detektierten *Aktionspotentiale*, führten zu einer kontroversen Diskussion in der Wissenschaftsgemeinde [30, 31].

Darüber hinaus untersuchten Pui et. al. Ende 2008 [32] die Kopplung von top-down prozessierten Polysilicium-NWs mit schlagenden Rattenherzen, einzelnen Herzzellen (*Cardiomyozyten*) und einer geschlossenen Lage von glatten Muskelzellen der Aorta ebenfalls aus der Ratte. Während die Aufnahmen vom ganzen Herz gute Übereinstimmung mit extrazellulären Ableitungen durch eine Mikroelektrode aufwiesen, waren weder die Einzelzellsignale noch die Messungen an der Zellschicht konsistent mit intrazellulären Ableitungen oder den theoretischen Modellen. Allerdings konnte erneut ein außergewöhnlich gutes *Signal-Rausch-Verhältnis* festgestellt werden. Kurze Zeit später folgten zwei weitere Publikationen aus der Gruppe von Charles Lieber, die aber wenig grundsätzlich Neues boten [33, 34].

Obwohl oder gerade weil nach wie vor eine solide Interpretation der Signale aussteht, knüpft diese Arbeit an die genannten Veröffentlichungen an. Es gibt genügend Anzeichen, dass Silicium Nanodrähte bei der Zell-Transistor einige Vorteile gegenüber planaren Bauelementen haben. Allerdings ist ein genaues physikalisches Verständnis des Kopplungsmechanismus erforderlich, um eine größtmögliche Verbesserung zu erzielen.

1. Einleitung

1.3. Aufbau der Arbeit

Die in dieser Einleitung begonnene Unterscheidung zwischen rein technischen und biologisch motivierten Fragestellungen zieht sich als roter Faden durch diese Arbeit. Im nun folgenden Kapitel 2 werden die Grundlagen für das Verständnis dieser beiden Bereiche gelegt. Insbesondere die Einführung in die Funktionsweise von *Feldeffekttransistoren* ab Seite 13 soll Lesern nicht-technischer Disziplinen das nötige Grundwissen für die weiteren Kapitel vermitteln. Nach einer allgemeinen Abhandlung über das *Rauschen* (s. Seiten 22 ff.), als einem der zentralen Themen dieser Arbeit, folgt eine Erläuterung der elektrophysiologischen Grundlagen ab Seite 34 für Leser, die hiermit weniger vertraut sind. Das Kapitel schließt mit der Verknüpfung der beiden Bereiche in der Zell-Transistor-Kopplung (s. Seiten 42).

Das relativ eigenständige Kapitel 3 beschäftigt sich mit der Herstellung der Chips und bildet so ein Bindeglied zwischen der theoretischen Einführung und den Ergebnissen der Experimente. Es werden dort die grundlegenden Prozessierungsverfahren vorgestellt (s. Seite 48 ff.) und das Layout der Chips beschrieben (s. Seite 59 ff.).

Im Anschluss daran werden in Kapitel 4 und Kapitel 5 die Experimente dargestellt, die mit diesen Chips durchgeführt wurden. Im ersten geht es um die elektrische Charakterisierung der Bauelemente. In diesem Zusammenhang werden ab Seite 68 zunächst Messaufbau und -methodik erläutert, und die gängigen Transistor-Kennlinien diskutiert (s. Seite 70 ff.). Danach werden die Ergebnisse der Rauschmessungen besprochen (s. Seite 76 ff.). Das darauf folgende Kapitel beschäftigt sich schließlich mit allen Messungen, die mit Zellen durchgeführt wurden. Es beginnt mit der extrazellulären Ableitung der Aktionspotentiale von HL-1 Zellen (s. Seite 88). Als zweiter und sicherlich bedeutendster Punkt der gesamten Arbeit wird ab Seite 96 beschrieben, wie die Zell-Nanowire-Kopplung quantitativ durch Transferfunktionsmessungen evaluiert wurde. In diesem Zusammenhang wird dargestellt, welche besonderen Vorteile sich gegenüber planaren Transistoren ergeben. Als Ergänzung zu diesen elektrischen Messungen werden am Ende des Kapitels rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Zellen auf den NWs gezeigt (s. Seite 117 ff.).

Der Hauptteil schließt mit einer Zusammenfassung der Ergebnisse und einem Ausblick ab Seite 127. Der anschließende Anhang ist im Wesentlichen in drei Teile

1.3. Aufbau der Arbeit

gegliedert, die Ergänzungen zur Fabrikation der Chips (s. Seite 135 ff.), zu deren elektrischer Charakterisierung (s. Seite 150 ff.) und den Zellexperimenten (s. Seite 156 ff.) enthalten. Solche Ergänzungen können Angaben zu Standardverfahren oder -protokollen, verwendeten Geräten oder Chemikalien mit Details zu den Herstellern, sowie Quellcode von Software sein. Darüber hinaus existiert ein vierter Teil, in dem alle Variablen und Abkürzungen aufgelistet sind (s. Seite 170 ff.). Den Schluss der gesamten Arbeit bilden das Literaturverzeichnis (s. Seite 175 ff.) und die Danksagung (s. Seite 188 ff.)

Um das Lesen der Arbeit zu erleichtern, sei abschließend noch auf eine Reihe von Konventionen hingewiesen: Fachbegriffe wurden bei ihrer ersten Verwendung kursiv geschrieben. Bei langen, häufig vorkommenden Begriffen wurde gleichzeitig in Klammern eine Abkürzung eingeführt. Es wurde versucht, deutsche Ausdrücke zu verwenden, wo immer das sinnvoll war. Falls die entsprechenden englischen Wörter wesentlich geläufiger sind, wurden diese benutzt oder zumindest beim ersten Mal erwähnt. Hersteller- und Produktnamen wurden in Kapitälchen gesetzt. Außer in begründeten Einzelfällen wurde im Text nur der Name der Firma oder eine Kurzform davon angegeben. Weitere Details wie Rechtsform und Firmensitz können im Anhang nachgeschlagen werden.

2. Physikalische und biologische Grundlagen

Erkläre mir und ich vergesse.
Zeige mir und ich erinnere.
Beziehe mich ein und ich verstehe.

(Konfuzius, chinesischer Philosoph, 551 v.Chr. - 479 v.Chr.)

2.1. Einleitung

In diesem Kapitel werden die Grundlagen für das Verständnis der weiteren Arbeit vorgestellt. Ziel ist es, dem interdisziplinären Charakter dieser Arbeit folgend, auch fachfremden Lesern eine allgemeinverständliche Einführung in die wichtigsten Themenbereiche zu geben. Es folgt zunächst eine Erläuterung zu messtechnischen Sachverhalten, wie etwa der Funktionsweise von Feldeffekt-Transistoren oder eines Impedanzwandlers. Außerdem wird auf die Theorie des Rauschens (s. Abschnitt 2.3) eingegangen. Der zweite Teil dieses Kapitels (s. Abschnitt 2.4) beschäftigt sich dann mit der Elektrophysiologie und der Zell-Transistor-Kopplung.

2.2. Messtechnik

2.2.1. Feldeffekt-Transistoren [35]

Aufbau, Arbeitsweise und Kennlinien

Ein *Feldeffekt-Transistor (FET)* ist ein elektronisches Bauelement mit drei Kontakten. Beim Anlegen einer Spannung zwischen zwei dieser Kontakte, *Source* und *Drain* fließt ein Strom, I_D , der sich durch die Spannung am dritten Kontakt, dem *Gate*, verändern lässt. Dabei ist das Gate durch ein nichtleitendes Dielektrikum

2. Physikalische und biologische Grundlagen

isoliert, so dass darüber kein Strom fließen kann.

Der einfachste denkbare FET könnte durch ein Stück Halbleitermaterial (z.B. Silicium) realisiert werden, das an beiden Enden mit Metallkontakten verbunden wird. Dazwischen müsste man auf einer dünnen Isolatorschicht (z.B. Siliciumdioxid) einen dritten Kontakt strukturieren. Ein solcher Transistor hätte jedoch zwei entscheidende Nachteile: Man könnte nur einen davon pro Chip herstellen, da mehrere durch den Halbleiter unmittelbar miteinander kurz geschlossen wären. Außerdem entstünde eine Energiebarriere zwischen dem Metall und dem Halbleiter, die zu einem hohen Zuleitungswiderstand und einem nichtlinearen Verhalten führen würde.

Daher besitzen Source und Drain (incl. Zuleitungen) in der Regel eine von Typ und Konzentration her andere Dotierung, als der Rest des Substrats. Da entweder p-leitende Kontakte und ein n-leitendes Substrat, oder umgekehrt, verwendet werden, ergeben sich zwei Typen von FETs. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass sich auch die Dotierung unter dem Gate von der des übrigen Substrats unterscheiden kann. Dadurch wird die sogenannte *Schwellspannung* (engl. *threshold voltage*, V_{th}) eingestellt. Dadurch ist es möglich, dass Transistoren schon im Grundzustand leiten (engl. *normally-on*). Dies ist jedoch nur eine Verallgemeinerung des hier besprochenen Falls und wird aus Gründen der Klarheit nicht weiter berücksichtigt.

Im Weiteren werden nur solche FETs betrachtet, bei denen die Zuleitungen aus p-dotiertem Material bestehen, weil alle in dieser Arbeit untersuchten Bauelemente zu dieser Art gehören. Durch die unterschiedliche Dotierung von Substrat und Kontakten entstehen pn-Übergänge, von denen immer mindestens einer in Sperrrichtung gepolt ist, solange $V_{GS} = 0$ ist (s. Abbildung 2.1). So kann sowohl zwischen den einzelnen Transistoren, als auch zwischen Source und Drain im Normalfall kein Strom fließen.

Erst das Anlegen einer (negativen) Spannung am Gate führt dazu, dass der Bereich darunter als Folge der elektrostatischen Abstoßung der Elektronen zunächst an Ladungsträgern verarmt (engl. *depletion*) und bei einer weiteren Absenkung der Spannung positiv geladene Löcher angereichert werden. Da sich so ein leitender Kanal aus Ladungsträgern bildet, der nicht der ursprünglichen Dotierung entspricht, spricht man von einer *Ladungsträgerinversion*. Man definiert die Spannung, die nötig ist, um genau so viele Löcher unter der Gate-Elektrode anzureichern, wie im

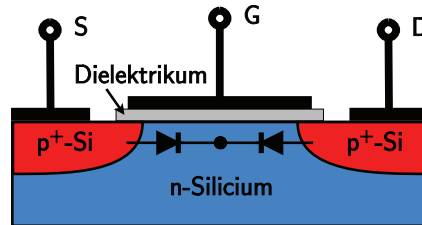


Abbildung 2.1.: Schematische Darstellung zum Aufbau eines Feldeffekt-Transistors. Die Diodensymbole verdeutlichen die pn-Übergänge im Inneren des Bauelements. Sie stellen sicher, dass in dem gezeigten Betriebszustand kein Strom zwischen Source- (S) und Drain- (D) Kontakt fließen kann. Erst das Anlegen einer negativen Spannung an das Gate (G) schaltet den Transistor ein.

Ausgangszustand Elektronen, als Schwellspannung V_{th} . In Abbildung 2.2 ist dieser Zustand für V_{DS} nahe Null dargestellt.

$$V_{GS} - V_{th} < V_{DS} < 0$$

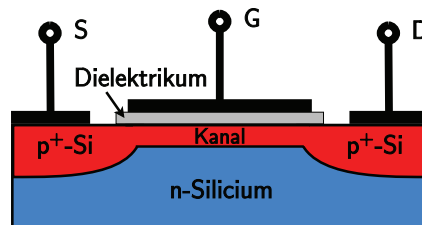


Abbildung 2.2.: Feldeffekt-Transistor im linearen Bereich. Beim Anlegen einer negativen Spannung am Gate bildet sich darunter ein leitender Kanal aus Minoritätsladungsträgern. Man spricht auch von Ladungsträgerinversion.

Dieser Arbeitsbereich zeichnet sich dadurch aus, dass sich der Transistor wie ein Widerstand verhält, was diesem Betriebszustand den Namen *linearer Bereich* gibt. Der Zusammenhang zwischen dem Strom und den beiden Spannungen wird durch Formel 2.1 beschrieben. Dabei geben die Konstanten c_{Ox} und μ_h die flächenbe-

2. Physikalische und biologische Grundlagen

zogene Kapazität des Gate-Dielektrikums beziehungsweise die Beweglichkeit der Löcher, sowie W und L die Breite beziehungsweise Länge des Kanals an. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass ein komplettes Modell die Kapazität der Inversionsschicht berücksichtigen müsste, die zu c_{Ox} in Reihe geschaltet ist. Dies führt dazu, dass die I_D nicht exakt proportional zu V_{GS} steigt, sondern für stark negative V_{GS} langsamer wächst (siehe Abbildung 2.5).

$$I_D = -\frac{c_{Ox}\mu_h W}{L} \left((V_{GS} - V_{th})V_{DS} - \frac{1}{2}V_{DS}^2 \right) \quad (2.1)$$

Während eine negativere Spannung V_{DS} zunächst betragsmäßig zu einem proportionalen Anstieg von I_D führt, sinkt dabei in der Nähe des Drain-Kontakts lokal die Differenz zwischen V_{GS} und dem Potential im Halbleiter, so dass dort die Inversionsschicht immer dünner wird. Dies macht sich in einem schwächeren Anstieg von I_D bemerkbar. Wenn V_{DS} kleiner als $V_{GS} - V_{th}$ wird, reißt der Kanal am Drain-Kontakt ab (engl. *pinch-off*) (s. Abbildung 2.3), so dass der Strom sich kaum noch verändert. Nur durch eine minimale Veränderung der Kanallänge bei weiterer Verringerung von V_{DS} ist in der Praxis ein leichter betragsmäßiger Anstieg zu beobachten. Dementsprechend wird dieser Zustand auch *Sättigungsbereich* genannt und lässt sich mathematisch durch Formel 2.2 ausdrücken. Der erste Klammerausdruck ergibt dabei zunächst einen konstanten Strom I_D . Erst die Multiplikation mit dem zweiten Term berücksichtigt die *Kanallängenmodulation*, die mit dem Parameter λ berücksichtigt wird.

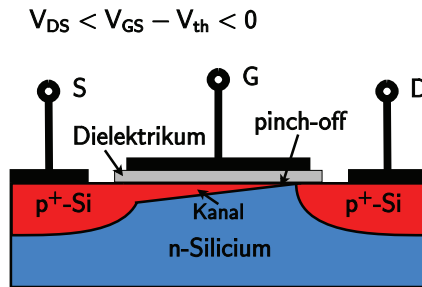


Abbildung 2.3.: Feldeffekt-Transistor im Sättigungsbereich. Wird die Drain-Source-Spannung kleiner, als die Gate-Spannung minus die Schwellspannung, so kommt es zu einer Abschnürung des Kanals (*pinch-off*).

$$I_D = -\frac{c_{ox}\mu_h W}{2L}(V_{GS} - V_{th})^2 \cdot (1 + \lambda \cdot (V_{DS} - (V_{GS} - V_{th}))) \quad (2.2)$$

In Grafik 2.4 ist der Zusammenhang zwischen I_D und V_{DS} als Kurvenschaar dargestellt. Alle sogenannten *Ausgangskennlinien* unterscheiden sich in der angelegten Gate-Spannung, die von oben nach unten negativer wird. Man kann gut die beiden Betriebszustände erkennen. Die gestrichelte Linie ergibt sich durch Einsetzen der Grenzbedingung $V_{DS} = V_{GS} - V_{th}$ in einen der beiden Ausdrücke 2.1 oder 2.2 und dient der Verdeutlichung der beiden Arbeitsbereiche.

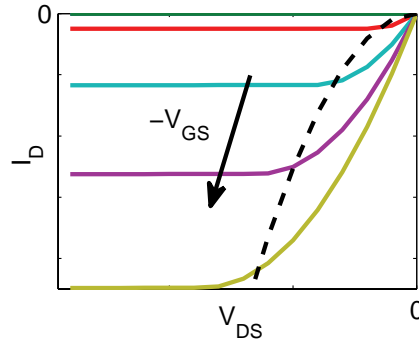


Abbildung 2.4.: Ausgangskennlinienfeld eines selbstsperrenden p-Kanal Transistors. Die Gate-Source-Spannung wird von oben nach unten immer negativer. Die gestrichelte Linie trennt den Sättigungsbereich (links) vom linearen Bereich (rechts).

Obwohl sich die Ausgangskennlinie gut eignet, um die physikalischen Vorgänge in einem FET zu verstehen, ist es für die Anwendung als Sensor wesentlich aufschlussreicher, den Zusammenhang zwischen I_D und V_{GS} näher zu betrachten. Die grafische Darstellung hiervon wird als *Transferkennlinie* bezeichnet. Eine Schaar solcher Kurven ist in Abbildung 2.5 links gezeigt. An Gleichung 2.2 erkennt man, dass die Kurven sich im Sättigungsbereich kaum unterscheiden. Das heißt, dieser Bereich befindet sich jeweils auf der gestrichelten Linie. Wie oben erwähnt, steigt der Betrag des Stroms bei starker Inversion (Übergang zum linearen Bereich) aufgrund der kleiner werdenden Kapazität der Inversionsschicht immer langsamer. Der optimale Arbeitspunkt für Messzwecke liegt dort, wo die Stromänderung bei

2. Physikalische und biologische Grundlagen

gegebener Änderung von V_{GS} beziehungsweise des Oberflächenpotentials am größten ist. Mathematisch ausgedrückt wird dort die Ableitung des Stroms nach der Gate-Spannung, die *Transkonduktanz* g_m (s. Formel 2.3), maximal.

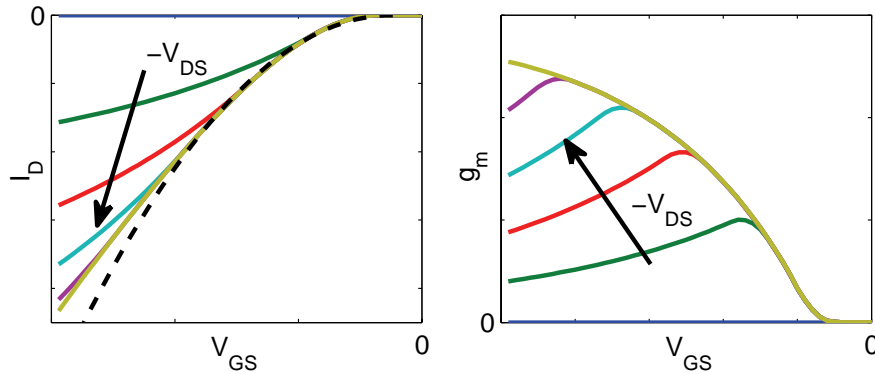


Abbildung 2.5.: Links: Transferkennlinienfeld eines selbstsperrenden p-Kanal Transistors. Der Betrag von V_{DS} steigt von oben nach unten. Die gestrichelte Parabel zeigt den Verlauf eines idealen Transistors im Sättigungsbereich ($I_D \propto (V_{GS} - V_{th})^2$). Rechts: Transkonduktanz g_m als Funktion der Gate-Spannung V_{GS} für nach oben steigende Beträge von V_{DS} .

$$g_m = \frac{\partial I_D}{\partial V_{GS}} \stackrel{!}{=} \max. \quad (2.3)$$

Der rechte Teil von Abbildung 2.5 zeigt die Transkonduktanz g_m obiger Transferkennlinien in Abhängigkeit von V_{GS} . Anhand dieser Grafik lassen sich zwei Dinge feststellen: 1. Es gibt für jede der Kurven, d.h. für jede V_{DS} , ein Maximum, das an der Grenze zwischen linearem und Sättigungsbereich liegt, und 2. Je größer der Betrag von V_{DS} , desto höher ist auch der größte Wert von g_m . Theoretisch könnte g_m beliebig anwachsen, wenn V_{DS} und V_{GS} nur negativ genug gewählt würden. In der Praxis sind dem jedoch physikalische Grenzen gesetzt. Beispielsweise würden zu hohe Spannungsbeträge zu elektrischen Entladungen durch das Gate-Oxid oder zu einer starken Erwärmung durch die hohen Ströme führen. Beide Effekte würden zu einer Zerstörung des Bauelements führen und sind deshalb unbedingt zu vermeiden.

Vom MOSFET zum (E)ISFET

Da ein herkömmlicher FET in der oben beschriebenen Bauweise im Bereich des Kanals aus einer Schichtfolge aus einem Metall, Siliciumoxid als Gate-Dielektrikum und Silicium als Substrat besteht, wird er dementsprechend als engl. *Metal-Oxide-Semiconductor FET* (*MOSFET*) bezeichnet. Im Gegensatz dazu nennt man FETs wie sie als Biosensoren in einer wässrigen Umgebung eingesetzt werden *electrolyte insulator silicon FETs* oder kurz *EISFETs*. Wie das Fehlen des Buchstabens „M“ im Namen andeutet wird die Metallisierung bei einem EISFET weggelassen, so dass nur noch das Gate-Dielektrikum übrig bleibt, das gegebenenfalls mit einer ionenempfindlichen Schicht (z.B. Aluminiumoxid) versehen werden kann. Dann spricht man von einem *ionensensitiven FET* beziehungsweise *ISFET* [36]. Für Messungen mit Zellen, bei denen lokale Änderungen des Potentials im Elektrolyt registriert werden sollen, verzichtet man auf eine solche Modifikation. Stattdessen können Schichten aufgebracht werden, die aufgrund einer hohen Dielektrizitätskonstante [37] die Gate-Kapazität vergrößern. Desweiteren muss das Elektrolyt von allen stromführenden Bereichen, wie etwa Zuleitungen fern gehalten werden, um Kurzschlüsse zu verhindern. Hierfür wird über dem gesamten Chip beziehungsweise Wafer eine Passivierungsschicht abgeschieden, die nur im Bereich der Gates, auch *aktiver Bereich* genannt, geöffnet wird. Als Materialien kommen hierfür Polymere (SU-8, Parylen), Siliciumnitrid oder Siliciumoxid infrage, wobei erstere sich aufgrund ihrer geringeren chemischen und mechanischen Stabilität nur für kürzeren Einsatz eignen. Die resultierende Struktur ist schematisch in Abbildung 2.6 gezeigt.

Neben dieser einfachen Bauweise, besteht die Möglichkeit, das Gate wie beim MOSFET mit einer Metallisierung oder hoch dotierten Schicht aus Polysilicium zu versehen und erst dann die Passivierung aufzubringen [38]. Dadurch verliert die Gate-Elektrode jeglichen Kontakt zu einem Bezugspotential (engl. *floating gate*). In dieser Ausführung können die Geometrie des Gates und der Sensorfläche unabhängig voneinander für den jeweiligen Einsatzzweck optimiert werden. Da eine Metallisierung jedoch die NW, um die es ja in dieser Arbeit geht, vergraben würde, kommt diese Variante hier nicht in Betracht und soll auch nicht weiter berücksichtigt werden.

Hinsichtlich ihrer elektrischen Eigenschaften unterscheiden sich EISFETs kaum

2. Physikalische und biologische Grundlagen

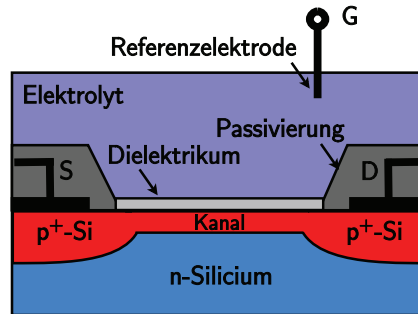


Abbildung 2.6.: Schematische Darstellung eines EISFETs. Die Grundstruktur basiert auf dem oben dargestellten p-FET.

von MOSFETs. Die Gate-Spannung V_{GS} wird jedoch an eine im Elektrolyt befindliche *Referenzelektrode*, häufig ein *Silber-Silberchlorid-Draht*, angelegt. In einer solchen Konfiguration bildet sich aufgrund elektrochemischer Effekte an allen beteiligten Grenzflächen, also an der Elektrode und an der Transistoroberfläche, eine *elektrolytische Doppelschicht* aus Ionen [39]. Über dieser fällt je nach beteiligten Materialien eine bestimmte Spannung ab, so dass dadurch ein definiertes Oberflächenpotential am Gate eingestellt werden kann. Ein optimaler Betrieb erfordert elektrochemisch stabile Oberflächen. Das Siliciumoxid ist aber instabil [40], was zu einer unvermeidlichen Drift des Drain-Stroms I_D führt, die reproduzierbare Messungen über einen längeren Zeitraum erschwert. Hierbei hat die Erfahrung gezeigt, dass p-Kanal Transistoren ein günstigeres Verhalten haben, denn das Anlegen einer negativen Gate-Spannung im Arbeitspunkt verhindert, dass die kleinen und daher mobilen Kationen (vor allem Na^+ und K^+) ins Siliciumdioxid eindringen und sich so auf den Drain-Strom auswirken [41].

2.2.2. Signalverstärkung [42]

Wie im letzten Abschnitt beschrieben reagiert der Strom durch einen EISFET auf Änderungen des Oberflächenpotentials. Um dies messen zu können, benötigt man eine Schaltung, die einerseits die Drain-Source-Spannung auf einem konstanten Wert hält und gleichzeitig den Strom in eine Spannung umwandelt, die dann weiter verstärkt oder digitalisiert werden kann. Eine einfache Schaltung, die beide

Anforderungen erfüllt ist der *Impedanzwandler*, der sich mit einem Operationsverstärker und einem Rückkoppelwiderstand R_f realisieren lässt (s. Abbildung 2.7).

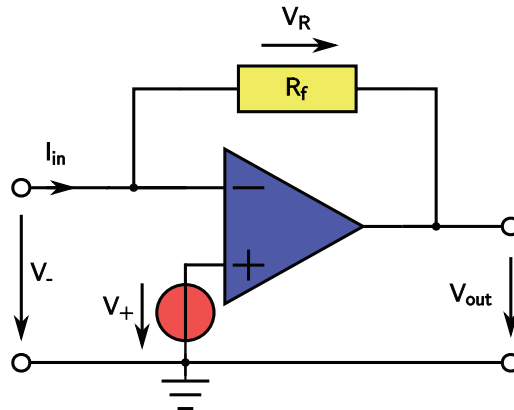


Abbildung 2.7.: Blockschaltbild eines Impedanzwandlers bestehend aus einem Operationsverstärker (blau), einem Widerstand (gelb) und einer optionalen Spannungsquelle (rot).

Ein idealer Operationsverstärker, der eine unendliche Verstärkung aufweist, hat in dieser Konfiguration die Eigenschaft, dass in seine beiden Eingänge („+“ und „-“) weder Strom fließt noch eine Spannung dazwischen anliegt, da die Rückkopplung über R_f beide Potentiale auf den gleichen Wert zwingt. Am Ausgang hingegen können jeder beliebige Strom und jede beliebige Spannung auftreten (*Nullor-Modell*). Wie dies aus der unendlichen Verstärkung folgt, kann in der einschlägigen Fachliteratur nachgelesen werden [42].

Durch diese Idealisierung lässt sich anhand der Kirchhoff'schen Gleichungen unmittelbar nachvollziehen, dass obige Forderungen erfüllt sind: Legt man an den positiven Eingang V_+ die Spannung V_{DS} an, stellt sich diese auch am negativen Eingang (V_-) ein, so dass hier der Drain des Transistors angeschlossen werden kann. Der Strom **in den Transistor** I_D ist dann invers zu I_{in} . Da dieser Strom nicht in den Operationsverstärker fließen kann, muss er folglich durch den Widerstand R_f fließen und führt dort zum Spannungsabfall $V_R = R_f \cdot I_{in}$. Man erhält schließlich Gleichung 2.4 für die Ausgangsspannung V_{out} , die wie gewünscht proportional zum Strom I_D ist.

2. Physikalische und biologische Grundlagen

$$V_{out} = V_{DS} + R_f \cdot I_D \quad (2.4)$$

Die Messanordnungen, die in dieser Arbeit verwendet wurden enthalten alle einen solchen Impedanzwandler als Eingangsverstärker. Je nach System wird das Signal dann entweder direkt digitalisiert oder analog weiterverarbeitet.

2.3. Rauschen [43]

2.3.1. Definition

Beim *Rauschen* handelt es sich, von einigen Ausnahmen abgesehen, um einen unerwünschten Teil eines (physikalischen) Signals, der dem Nutzsignal überlagert ist. Da dieser als zufällige Größe weder bekannt noch vorhersagbar ist, kann er im Nachhinein nicht entfernt werden und stellt so eine fundamentale Grenze für jede Messung dar. Allerdings lässt sich der Einfluss des Rauschens durch die Wahl eines geeigneten Arbeitsbereichs, Filterung oder Mittlung über mehrere Messungen reduzieren. Je nach physikalischer Ursache unterscheidet man verschiedene Rauscharten. Die für die NW-Transistoren relevanten werden in diesem Abschnitt vorgestellt. Zunächst folgt ein allgemeiner Abriss über die mathematische Behandlung des Phänomens.

2.3.2. Mathematische Beschreibung

Beschreibung im Zeitbereich

Wie in Abbildung 2.8 anhand eines exemplarischen Zeitverlaufs mit zugehöriger *Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion* dargestellt, handelt es sich bei einem rauschbehafteten Signal um eine Zufallsgröße. Dementsprechend bedient man sich statistischer Methoden zu seiner Beschreibung. Der Einfachheit halber beziehen sich im Weiteren alle Formeln auf *reine*, das heißt gleichanteilfreie, *Schwankungsgrößen*, sofern nicht anders angegeben. Für eine Verallgemeinerung auf Schwankungsgrößen mit konstantem Beitrag sei auf die Literatur verwiesen [43].

Ist man lediglich an einem *Effektivwert* σ beziehungsweise einem Maß für die Leistung (*Varianz* σ^2) des Rauschens $a(t)$ interessiert, erhält man dies durch Mittlung über das Quadrat der Amplitude über einen möglichst großen Zeitraum:

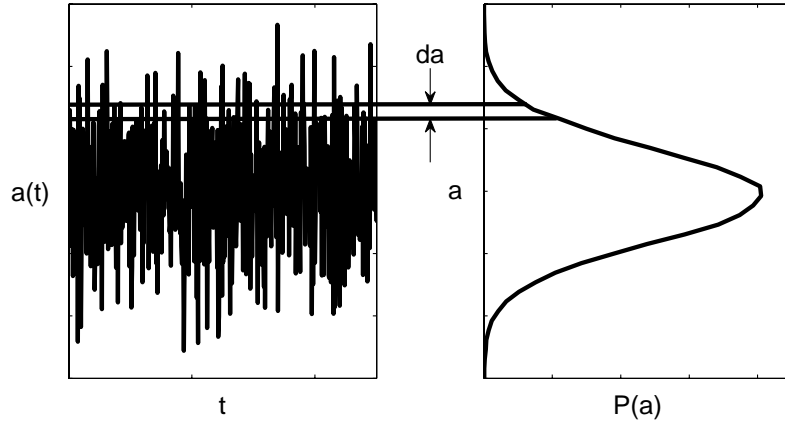


Abbildung 2.8.: Exemplarischer Zeitverlauf eines Rauschvorgangs (links). Im rechten Bild ist die Wahrscheinlichkeitsdichte für das Auftreten der einzelnen Amplituden aufgetragen. Ist sie wie hier gaussförmig, so spricht man von einem Gauss'schen Rauschprozess, wie z.B. beim thermischen Rauschen.

$$\sigma^2 = \overline{a(t)^2} = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^{+T} a(t)^2 \cdot dt \quad (2.5)$$

Treten in einem System mehrere Rauschgrößen (a_1, a_2) auf, erhält man die Gesamtleistung, indem die Varianz der Summe berechnet wird (s. Gleichung 2.6). Die Größe c_{12} wird als Korrelationskoeffizient bezeichnet. Sie gibt darüber Auskunft, ob es für beide Schwankungen eine gemeinsame Ursache (z. B. gemeinsame Spannungsversorgung) gibt. In der Regel versucht man Rauschvorgänge nach ihren physikalischen Ursachen zu trennen, so dass sie unkorreliert sind. Aus Formel 2.6 ergibt sich mit $c_{12} = 0$, dass die gesamte Leistung in diesem Fall gleich der Summe der Einzelleistungen ist. Damit ist es möglich die Anteile auch mathematisch getrennt voneinander zu behandeln.

$$\overline{(a_1 + a_2)^2} = \overline{a_1^2} + \overline{a_2^2} + 2\overline{a_1 a_2} = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + 2c_{12}\sigma_1\sigma_2 \quad (2.6)$$

Varianz und Effektivwert lassen jegliche Information über den zeitlichen Verlauf

2. Physikalische und biologische Grundlagen

des Signals außer Acht. Dieser Nachteil kann durch das Bilden der *Autokorrelationsfunktion* (AKF, s. Ausdruck 2.7) vermieden werden. Obwohl der exakte Wert des Rauschanteils zu einem bestimmten Zeitpunkt t_1 rein zufällig ist, kann eine Wahrscheinlichkeitsaussage über den Wert zur Zeit $t_2 = t_1 + \tau$ gemacht werden, weil sich die zugrunde liegenden physikalischen Größen nicht beliebig schnell ändern können.

$$\rho_a(\tau) = \overline{a(t)a(t+\tau)} = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^{+T} a(t)a(t+\tau) \cdot dt \quad (2.7)$$

Deshalb lässt sich aus der AKF einer Messung darauf schließen, welche physikalischen Mechanismen auf Grund ihrer Geschwindigkeit überhaupt in Frage kommen. Sie ist damit ein wichtiges Hilfsmittel bei der Suche nach der Ursache für ein bestimmtes Rauschen. Um den Zusammenhang zwischen AKF und zeitlicher Veränderung zu verdeutlichen, sind in Abbildung 2.9 zwei Rauschprozesse mit unterschiedlichen Zeitkonstanten τ_a und τ_b dargestellt. Die AKF mit der kleineren Zeitkonstante fällt sichtlich schneller ab.

Wie durch Einsetzen ersichtlich ist, gilt $\rho_a(0) = \overline{a^2} = \sigma^2$. Konzeptionell ist die Varianz also ein spezieller Wert der AKF. Die AKF eines stationären muss Prozesses symmetrisch sein. Denn eine Änderung, die im Intervall τ vor einem beliebigen Zeitpunkt auftritt, kann mit der selben Wahrscheinlichkeit im gleichen Zeitraum danach stattfinden. Auf diese Weise lässt sich überprüfen, ob alle Einschwingvorgänge zum Zeitpunkt einer Messung abgeschlossen sind.

Beschreibung im Frequenzbereich

Es ist aufschlussreich, außer dem zeitlichen Verlauf einer Rauschgröße auch die Verteilung der Leistung auf unterschiedliche Frequenzen, die *spektrale Leistungsdichte*, zu untersuchen. Da sich den einzelnen Rauscharten bestimmte Charakteristika bezüglich ihrer Spektren zuordnen lassen, ist es möglich, die beteiligten Prozesse so voneinander zu unterscheiden. Auch erkennt man sofort, ob die Messung durch (deterministische) Störungen, zum Beispiel eine Einkopplung der Netzspannung bei 50 Hz, beeinträchtigt wurde.

Ein typisches Rauschspektrum ist in Abbildung 2.10 gezeigt. Es lassen sich drei Bereiche unterscheiden: Ein Gleichanteil des Signals erscheint als Spitze (δ -

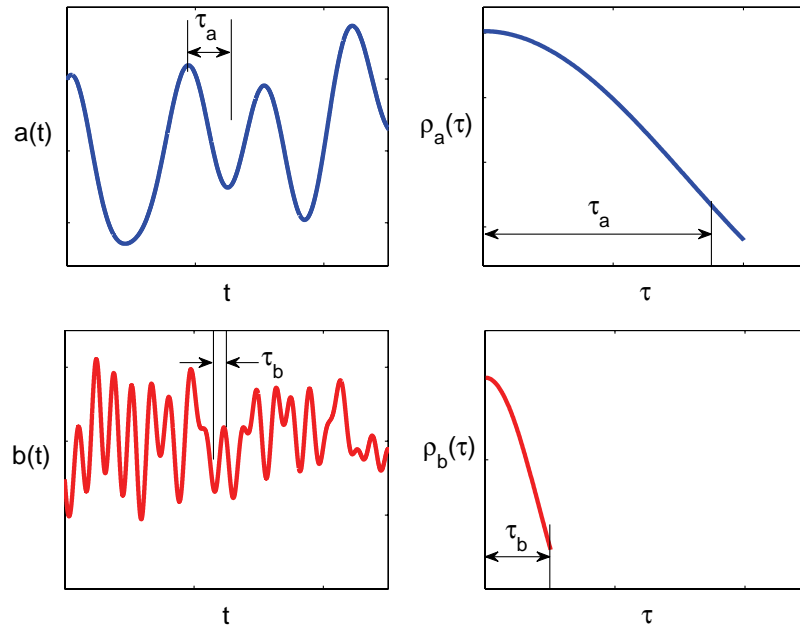


Abbildung 2.9.: Zusammenhang zwischen zeitlichem Verlauf (links) und Autokorrelationsfunktion (rechts) für eine langsame Rauschgröße a (oben) und eine schnelle b (unten). Die Zeitachsen für t und τ sind jeweils oben und unten gleich, um den Unterschied beider AKF hervorzuheben.

Funktion) nahe 0 Hz. Bei niedrigen Frequenzen schließt sich ein Bereich an, in dem die Rauschleistungsdichte ungefähr umgekehrt proportional zur Frequenz abnimmt. Im mittleren Frequenzbereich ist die Leistung meist konstant und wird als *weißes Rauschen* bezeichnet. Erst bei großen Frequenzen fällt die Leistungsdichte weiter ab. Dies ist eine Konsequenz aus der endlichen Gesamtleistung des Signals beziehungsweise der endlichen Bandbreite eines jeden Systems.

Oft können theoretische Aussagen zur AKF eines Zufallsprozesses gemacht werden. Durch Fourier-Transformation lässt sich daraus das zu erwartende Spektrum berechnen und mit der Messung vergleichen. Aufgrund der Gesetze der Fourier-Transformation lässt sich ferner die Gesamtleistung und mit ihr die Varianz eines Signals durch Integration über das Spektrum berechnen.

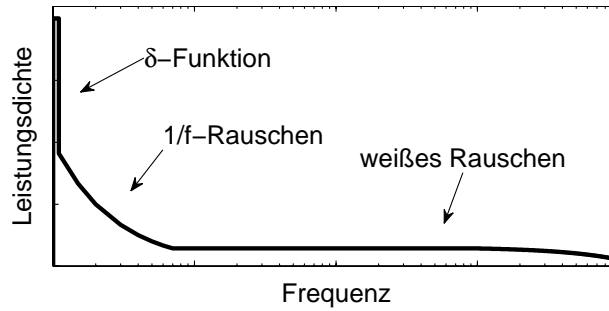


Abbildung 2.10.: Schema eines häufig beobachteten Rauschspektrums mit Kennzeichnung der einzelnen Bereiche.

2.3.3. Überblick über die beteiligten Rauscharten

Thermisches oder Johnson-Rauschen

Ähnlich wie in einem idealen Gas, besitzen die freien Ladungsträger in einem Leiter oder Halbleiter eine Eigenbewegung aufgrund ihrer thermischen Energie oder anders ausgedrückt: Die Elektronen beziehungsweise Löcher bewegen sich auch ohne äußere Kraft nur aufgrund der Stöße an Grenzflächen und Gitteratomen des Festkörpers. Dabei kommt es zu einer geringen, sich ständig ändernden Polarisaton, die sich als Spannung zwischen den Anschlüssen eines Bauelements bemerkbar macht. Misst man die Varianz dieser Spannung an einem Widerstand R in einem Frequenzbereich mit der Bandbreite Δf lässt sich empirisch der folgende Zusammenhang beobachten:

$$\sigma_V = \sqrt{4k_B T R \Delta f} \quad (2.8)$$

Darin bedeuten k_B die Boltzmann-Konstante und T die absolute Temperatur. Es kommt nicht darauf an, in welchem Bereich des Spektrums man sich befindet, da das Leistungsdichtespektrum einen konstanten Wert von $S_V(f) = 4k_B T R$ hat. Damit ergibt sich durch Integration über das Spektrum theoretisch eine unendlich große Gesamtleistung. Dies ist physikalisch unmöglich und wird in der Praxis dadurch ausgeschlossen, dass das Gesamtsystem nur eine begrenzte Bandbreite hat. Die Formel und die Begrenzung der Gesamtleistung werden in der angegebenen Literatur auch theoretisch diskutiert, worauf aber an dieser Stelle verzichtet wird, da sich aus der Theorie keine nennenswerten Folgerungen für die Praxis ergeben.

Schrotrauschen

Auch das *Schrotrauschen* beruht auf einem Polarisations- beziehungsweise Influenzeffekt. Da der Strom an Ladungsträger gebunden ist, die jeweils eine Elementarladung transportieren, fließt er nicht kontinuierlich. Immer wenn eine Ladung auf ein Bauelement fließt oder es verlässt, ist damit eine Verschiebung des Ladungsschwerpunktes verbunden, die einen Influenzstrom in den (äußeren) Zuleitungen verursacht. Bei vielen Ladungsträgern besteht dieser Strom aus einer Überlagerung von vielen Einzelpulsen, die jeweils eine Dauer τ_t haben, wobei dies die Zeit ist, die ein Ladungsträger zum Durchqueren des Bauelements benötigt. Für Frequenzen, die klein gegenüber $1/\tau_t$ ($O(10^9 \text{ Hz})$) sind, entsteht bei einem Stromfluss I_0 ein Rauschstrom mit folgendem Effektivwert:

$$\sigma_I = \sqrt{2eI_0\Delta f} \quad (2.9)$$

Hier ist e die Elementarladung und Δf wiederum die betrachtete Bandbreite. Da dieses Rauschen unabhängig von der Beschaffenheit des Bauelements auftritt, wird auch hier auf eine detaillierte theoretische Diskussion verzichtet.

Generations-Rekombinations-Rauschen

Während das thermische Rauschen und das Schrotrauschen in allen Bauelementen gleichermaßen auftreten, handelt es sich beim *Generations-Rekombinations-Rauschen* um einen Effekt, der spezifisch für Halbleiter ist. Da es im Halbleiter für die Ladungsträger unterschiedliche Energiezustände gibt, zwischen denen Übergänge stattfinden, schwankt die Anzahl der Teilchen in jedem dieser Zustände permanent. Beispielsweise führt der Übergang eines freien Elektrons in n-Silizium in einen gebundenen Zustand zu einer kurzzeitigen Erhöhung des Widerstands.

Im Folgenden wird die mathematische Beschreibung dieses Vorgangs für einen solchen statistischen Übergang skizziert. Da es die Rechnung erheblich vereinfacht, soll die Zufallsgröße $A(t)$ die (abstrakten) Zustände „0“ und „1“ annehmen können (s. Abbildung 2.11). Kennt man die Lebensdauern der beiden Zustände τ_0 beziehungsweise τ_1 , so lassen sich direkt die Wahrscheinlichkeiten P_0 (s. Gleichung 2.10) und P_1 (s. Gleichung 2.11) angeben mit denen sich das System in Zustand „0“ bzw. „1“ befindet:

2. Physikalische und biologische Grundlagen

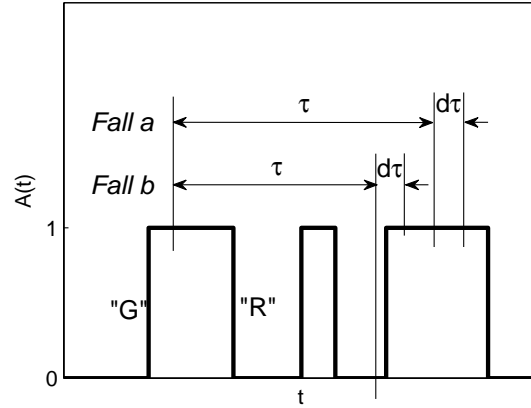


Abbildung 2.11.: Schematische Darstellung eines statistischen Signals, bei dem die Zustände „0“ und „1“ auftreten können, auch als *random telegraph signal* bezeichnet.

$$P_0 = \frac{\tau_0}{\tau_0 + \tau_1} \quad (2.10)$$

$$P_1 = 1 - P_0 = \frac{\tau_1}{\tau_0 + \tau_1} \quad (2.11)$$

Wie oben bereits dargelegt lassen sich viele Eigenschaften eines Rauschvorgangs aus der AKF ableiten. Aufgrund der Wahl der Werte von $A(t)$ handelt es sich um einen Vorgang mit Gleichanteil. Gegen Ende der Herleitung, kann aber über die Beziehung $\rho_A(\tau) = \rho_a(\tau) + \bar{A}^2$ auf die reine Schwankungsgröße $a(t)$ geschlossen werden. Zunächst wird der Erwartungswert für $A(t)A(t+\tau)$ berechnet. Da nur der Zustand „1“ einen Beitrag liefert, ergibt sich folgender Ausdruck:

$$\rho_A(\tau) = 1 \cdot 1 \cdot P[A(t) = 1] \cdot P[A(t+\tau) = 1|A(t) = 1] \quad (2.12)$$

Schreibt man P_{11} für die Wahrscheinlichkeit das System zum Zeitpunkt t **und** $t + \tau$ im Zustand „1“ anzutreffen, so vereinfacht sich obiger Ausdruck zu Gleichung 2.13. Dabei ist es wichtig anzumerken, dass **jede gerade Anzahl** von Zustandsübergängen im Intervall τ diese Bedingung erfüllt.

$$\rho_A(\tau) = P_1 \cdot P_{11}(\tau) = \frac{\tau_1}{\tau_0 + \tau_1} \cdot P_{11}(\tau) \quad (2.13)$$

Da das System, das zum Zeitpunkt t in Zustand „1“ war, zum Zeitpunkt $t + \tau$ entweder im Zustand „1“ oder „0“ sein muss (es gibt ja nur diese beiden), folgt weiter:

$$P_{11}(\tau) + P_{10}(\tau) = 1 \quad (2.14)$$

Dabei steht P_{10} für die Wahrscheinlichkeit von **ungerade** vielen Zustandsübergängen. Aufgrund der oben erwähnten Tatsache, dass jede beliebige gerade Anzahl von Zustandsübergängen bei der Berechnung von P_{11} berücksichtigt werden müsste, lässt sich diese Wahrscheinlichkeit nicht direkt angeben. Entsprechendes gilt auch für P_{10} . Indem jedoch ein infinitesimal kleines Intervall $d\tau$ eingeführt wird, in dem höchstens ein Übergang stattfinden kann, lässt sich $P_{11}(\tau + d\tau)$ bestimmen. Es gibt nur zwei Möglichkeiten, das System zum Zeitpunkt 0 **und** $\tau + d\tau$ im Zustand „1“ anzutreffen. Sie sind in Abbildung 2.11 als „Fall a“ und „Fall b“ dargestellt: (a) Entweder es findet eine gerade Anzahl von Übergängen im Zeitraum τ statt und keiner in $d\tau$ oder (b) es findet eine ungerade Anzahl von Übergängen in τ und genau einer in $d\tau$ statt. Es ist einleuchtend, dass die Wahrscheinlichkeiten für genau einen Übergang in $d\tau$ proportional zum betrachteten Zeitraum sind, und dass die Proportionalitätskonstante $1/\tau_1$ beziehungsweise $1/\tau_0$ ist, da im Mittel nach der Zeit τ_1 beziehungsweise τ_0 definitionsgemäß ein Übergang mit Sicherheit stattgefunden hat. Aus diesen Überlegungen ergibt sich folgende Gleichung:

$$P_{11}(\tau + d\tau) = P_{11}(\tau) \left[1 - \frac{d\tau}{\tau_1} \right] + P_{10}(\tau) \frac{d\tau}{\tau_0} \quad (2.15)$$

Durch Eliminieren von P_{10} mit Ausdruck 2.14 und durch Einführen der sogenannten *Relaxationszeitkonstanten* τ_ρ ($1/\tau_\rho = 1/\tau_0 + 1/\tau_1$) erhält man schließlich für P_{11} eine gewöhnliche Differentialgleichung erster Ordnung:

$$\frac{P_{11}(\tau + d\tau) - P_{11}(\tau)}{d\tau} = \frac{dP_{11}}{d\tau} = \frac{1}{\tau_0} - P_{11}(\tau) \frac{1}{\tau_\rho} \quad (2.16)$$

Mit der plausiblen Randbedingung, dass kein Übergang im Zeitabschnitt 0 stattfindet ($P_{11}(0) = 1$) und unter Verwendung von Gleichung 2.12 ergibt sich folgender Ausdruck für die gesuchte AKF:

2. Physikalische und biologische Grundlagen

$$\rho_A(\tau) = P_1(1 - P_1) \exp \frac{-\tau}{\tau_\rho} + P_1^2 \quad (2.17)$$

Daraus kann nun die AKF der reinen Schwankungsgröße $a(t)$ durch Abziehen von $\overline{A(t)}^2$ erhalten werden. Aufgrund der speziellen Wahl der Werte gilt $\overline{A(t)} = P_1$, so dass für ρ_a gilt:

$$\rho_a(\tau) = P_1(1 - P_1) \exp \frac{-|\tau|}{\tau_\rho} \quad (2.18)$$

Hierbei wurde der Betrag von τ gebildet, um der Tatsache Rechnung zu tragen, dass die AKF eines stationären Vorgangs, um den es sich hier handelt, stets symmetrisch zur Ordinate sein muss. Durch eine Fourier-Transformation, die hier nicht explizit ausgeführt wird, erhält man daraus die spektrale Leistungsdichtefunktion $S_a(f)$:

$$S_a(f) = 4P_1(1 - P_1)\tau_\rho \frac{1}{1 + (2\pi f\tau_\rho)^2} \quad (2.19)$$

Um daraus einen Ausdruck für eine große Anzahl von Generations-Rekombinations-Vorgängen an Störstellen herzuleiten, sind eine Reihe von recht komplizierten Überlegungen zur statistischen Unabhängigkeit und zur Abhängigkeit der Übergangswahrscheinlichkeiten von der Besetzungszahl der einzelnen Zustände nötig. Da das Ergebnis jedoch auch intuitiv verstanden werden kann, sei für eine ausführliche Behandlung auf die Literatur verwiesen. Das Ergebnis ist in Gleichung 2.20 angegeben, wobei N_t die Volumendichte der Störstellen (engl. *trap*), V das Volumen des Halbleiters und P_β die Besetzungswahrscheinlichkeit der Traps ist.

$$S_{GR}(f) = 4 N_t V P_\beta (1 - P_\beta) \tau_\rho \frac{1}{1 + (2\pi \tau_\rho f)^2} \quad (2.20)$$

An dieser Formel erkennt man, dass die Leistungsdichte proportional zur Anzahl der Störstellen ist, für niedrige Frequenzen konstant ist und deutlich oberhalb der Grenzfrequenz $f_g = 1/2\pi\tau_\rho$ mit $1/f^2$ abfällt. Dieser Zusammenhang gilt immer dann, wenn alle beteiligten Zeitkonstanten den gleichen Wert aufweisen. In der Praxis beobachtet man jedoch viel häufiger einen Abfall des Spektrums proportional zu $1/f$. Dies ist Gegenstand des nächsten Abschnitts.

1/f-Rauschen

Der Begriff 1/f-Rauschen bezieht sich auf den Verlauf des Spektrums. Eine große Zahl von physikalischen Effekten mit einer noch größeren Anzahl von Parametern, wie beispielsweise Oberflächenbeschaffenheit oder Herstellungsverfahren, kann solch ein Rauschen hervorrufen. Dementsprechend existiert eine Vielzahl von Modellen zur Beschreibung dieses Phänomens. Für FETs werden die beiden wichtigsten, das Hooge- und das McWorther-Modell, hier in den Grundzügen vorgestellt.

Beim Hooge-Modell wird kein konkreter physikalischer Vorgang zu Grunde gelegt, sondern rein mathematisch mit der Störrechnung bei statistisch unabhängigen Vorgängen argumentiert. Am Ende dieser Überlegungen steht folgende Formel:

$$\frac{S_N(f)}{\bar{N}^2} = \frac{\alpha}{\bar{N}f} = \frac{S_I}{I_0^2} \Big|_{\Delta V=0} = \frac{S_V}{V_0^2} \Big|_{\Delta I=0} \quad (2.21)$$

Dabei ist α ein empirischer Wert und \bar{N} die mittlere Ladungsträgerzahl im Kanal. Es ist bekannt, dass α für eine bestimmte Technologie nahezu konstant ist und sich daher gut eignet, um die Qualität von Halbleiterprozessen miteinander zu vergleichen. Versuche, diese Größe theoretisch herzuleiten, waren bislang kaum erfolgreich. Trotz dieser Schwierigkeiten entwickelte Hooge einen Formalismus, um das Rauschen mit Mobilitätsschwankungen der Ladungsträger in Verbindung zu bringen [44, 45]. Dieser $\Delta\mu$ -Formalismus findet bis heute Anwendung und ist anderen Modellen unter bestimmten Umständen überlegen ist.

Ganz anders hingegen wird das Rauschen beim McWorther-Modell explizit auf eine Schwankung der Ladungsträgerzahl (ΔN -Formalismus) zurückgeführt. Im letzten Abschnitt wurde hergeleitet, dass das Spektrum im Fall der Generation und Rekombination an Störstellen mit $1/f^2$ abfällt. Allerdings nur, wenn es genau eine Zeitkonstante gibt. Wie in Abbildung 2.12 angedeutet befinden sich die Traps im Gate-Dielektrikum beim FET jedoch in unterschiedlich großer Entfernung vom Kanal, so dass sie ein weites Spektrum von Energiebarrieren besitzen, die zu ihrer Besetzung überwunden werden müssen. Folglich existiert auch eine breite Verteilung von Zeitkonstanten. Daher überlagern sich die Spektren zu einem Verlauf proportional zu $1/f$, wie qualitativ in Abbildung 2.13 gezeigt.

An dieser Stelle wird nun davon ausgegangen, dass die Störstellen durch Tunnelprozesse besetzt werden, deren Wahrscheinlichkeit exponentiell mit dem Abstand

2. Physikalische und biologische Grundlagen

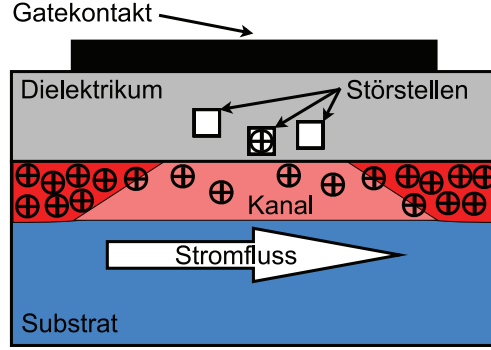


Abbildung 2.12.: Schema zum Generations-Rekombinations-Rauschen. Die Besetzung von Traps im Gate-Dielektrikum lässt den Strom durch den Transistor schwanken und führt so zu Rauschen.

der Störstelle von der Grenzfläche zum Halbleiter abnimmt. So erhält man mit dem materialabhängigen Parameter x_0 [46], der die Höhe der Tunnelbarriere widerspiegelt, für die Zeitkonstante τ folgenden Ausdruck:

$$\tau(x) = \tau(0) \exp(x/x_0) \quad (2.22)$$

Unter Berücksichtigung von Gleichung 2.20 erhält man daraus für jeden Wert von x ein eigenes Leistungsdichtespektrum, dessen Abhängigkeit von der Frequenz mathematisch eine analoge Struktur hat:

$$S_N^*(x) \propto \frac{\tau(x)}{1 + \omega^2 \tau(x)^2} \quad (2.23)$$

Integriert man über die Dicke des Dielektrikums d , wie das in Ausdruck 2.24 dargestellt ist, erhält man schließlich eine Abhängigkeit des gesamten Leistungsdichtespektrums gemäß Gleichung 2.25.

$$S_N \propto \int_d^0 S_N^*(x) \cdot dx \quad (2.24)$$

$$S(f) \propto \frac{N_t}{f} \quad (2.25)$$

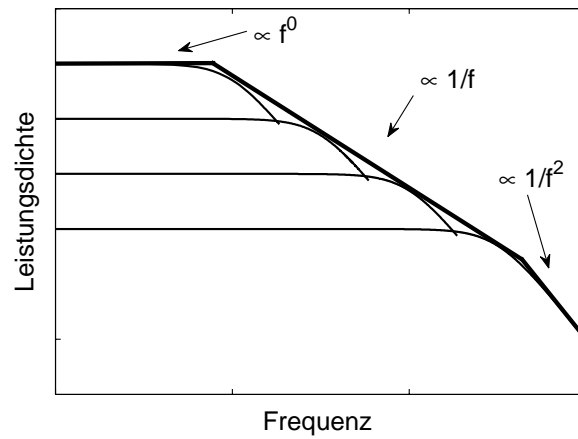


Abbildung 2.13.: Viele Generations-Rekombinations-Vorgänge mit unterschiedlicher Zeitkonstante (dünne Kurven) überlagern sich zum $1/f$ -Rauschen. Die Kurven sind in einem doppeltlogarithmischen Koordinatensystem dargestellt.

Hier ist N_t die Anzahl der Störstellen im Oxid [47]. Dieser Ausdruck ist die mathematische Formulierung der in Abbildung 2.13 anschaulich dargestellten Überlagerung vieler Generations-Rekombinations-Vorgänge.

2.4. Elektrophysiologie und Zell-Transistor-Kopplung

2.4.1. Definition und Abgrenzung

Wie der Name sagt, beschäftigt sich die *Elektrophysiologie* mit der Physiologie, der nicht krankhaften Funktion, von elektrischen Vorgängen in Lebewesen. Der Begriff ist sowohl in der Medizin, vor allem der Neurologie, als auch der Biologie gebräuchlich. Während Mediziner elektrophysiologische Messungen an Patienten vornehmen, um Schädigungen größerer zusammenhängender Strukturen (Hirnregionen, Nervenbahnen oder periphere Nerven) zu diagnostizieren, werden in der Biologie hauptsächlich einzelne Zellen oder kleine Netzwerke aus solchen untersucht.

Die Experimente in dieser Arbeit sind der letzteren Vorgehensweise zuzuordnen, die auch als *experimentelle Elektrophysiologie* bezeichnet wird. Zunächst werden die molekularen Grundlagen für elektrische Vorgänge in Zellen beschrieben, dann die wichtigsten Methoden aus diesem Bereich vorgestellt und gezeigt, wie die elektrische Aktivität von Zellen mit FETs gemessen werden kann.

2.4.2. Elektrisch erregbare Zellen [48]

Aufbau und elektrische Eigenschaften von Zellen

Zellen sind die elementaren Bausteine eines jeden Organismus. In den jeweiligen Geweben existieren spezialisierte Typen, die nur bestimmte Funktionen erfüllen, und sich daher erheblich voneinander unterscheiden. Dennoch ist der Grundaufbau aller (tierischen) Zellen gleich. Sie besitzen eine äußere Membran (*Plasmamembran*), die alle Bestandteile der Zelle, umschließt und von der Umgebung trennt. Im Inneren befinden sich neben einer Vielzahl von Proteinen außerdem die *Organellen*, die Organe der Zelle. Sie sind beispielsweise für die Energieproduktion (*Mitochondrien*), die Proteinsynthese (*Endoplasmatisches Retikulum mit Ribosomen*) oder den Transport von Stoffwechselprodukten (*Golgi Apparat*) zuständig. Abbildung 2.14 zeigt ein Schema mit all diesen Bestandteilen.

Für die elektrischen Eigenschaften ist hauptsächlich die Plasmamembran mit den in ihr enthaltenen Proteinen verantwortlich. Sie besteht aus einer circa 6-10 nm

2.4. Elektrophysiologie und Zell-Transistor-Kopplung

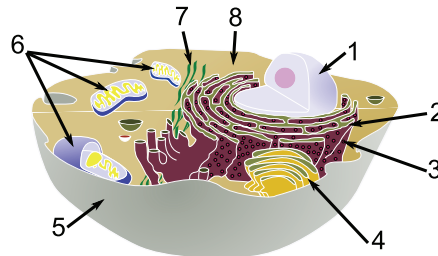


Abbildung 2.14.: Vereinfachte Darstellung zum Aufbau einer tierischen Zelle. Die Nummern kennzeichnen folgende Bestandteile: 1 Zellkern mit Nukleolus, 2 Endoplasmatisches Retikulum, 3 Ribosomen (rote Punkte), 4 Golgi Apparat, 5 Zellmembran, 6 Mitochondrien, 7 Bestandteile des Zytoskeletts, 8 Zytoplasma. Die Grafik wurde adaptiert von [49].

[48] dicken Doppelschicht von *ambiphilen* (hydrophiler Kopf, hydrophobes Ende) *Phospholipiden* (s. Abbildung 2.15 rechts unten). Durch die Wechselwirkung mit den Wassermolekülen des Elektrolyts konzentrieren sich die hydrophoben Bereiche im Inneren der Doppelschicht.

Aufgrund ihrer geringen Polarisierbarkeit bilden sie eine Energiebarriere für geladene Teilchen, so dass die Membran elektrisch einem Kondensator ähnelt. Ein Ionenaustausch ist nur durch spezielle Transmembranmoleküle möglich, die sich in zwei Klassen einteilen lassen: Zum einen gibt die *Ionenpumpen*, die Ionen gegen ihren elektrochemischen Gradienten transportieren können. Sie laden sozusagen den Kondensator und benötigen dafür chemische Energie in Form von *Adenosintriphosphat* (*ATP*). So wird die Zelle, ähnlich einer Batterie, in einen Zustand versetzt, in dem sie elektrische Aktivität zeigen kann. Dies geschieht durch die zweite Klasse von Molekülen, die *Ionenkanäle*. Sie ermöglichen als Reaktion auf chemische, mechanische, elektrische oder optische Stimuli einen Stromfluss durch die Membran und verändern so das elektrische Potential im Inneren der Zelle gegenüber dem extrazellulären. Außerdem gibt es Leckkanäle, die hauptsächlich für Kalium(I)-Ionen durchlässig sind. Diese sind nötig, um ein definiertes Membranpotential auch dann zu gewährleisten, wenn alle anderen Kanäle geschlossen sind. Im folgenden Abschnitt wird erläutert, wie daraus das (*Ruhe-*)*Membranpotential* entsteht, und wie es sich mathematisch beschreiben lässt.

2. Physikalische und biologische Grundlagen

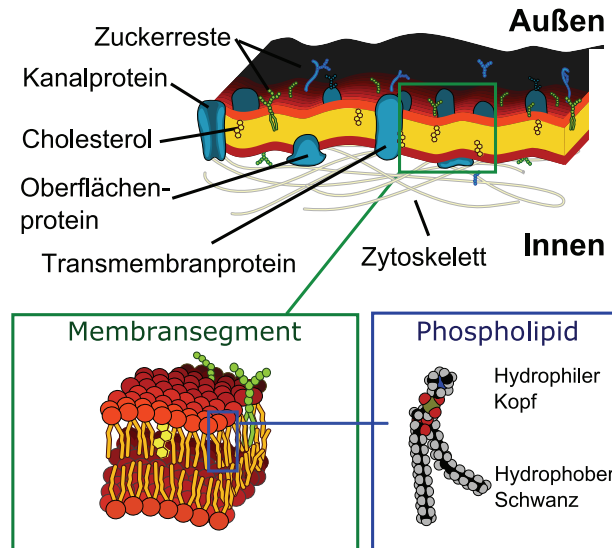


Abbildung 2.15.: Aufbau einer Zellmembran mit Detailansichten zu ihrer Organisation aus Phospholipiden. Die Darstellung wurde adaptiert von [50].

Quantitative Beschreibung des Membranpotentials

Die Ähnlichkeit einer elektrisch aktiven Zelle mit einer Batterie legt es nahe, die physikalischen Vorgänge mit ähnlichen Formalismen zu beschreiben. Aus der Elektrochemie ist der Fall einer *semipermeablen Membran* mit einer Salzlösung unterschiedlicher Konzentration auf beiden Seiten bekannt. Die Ionensorte, die die Membran passieren kann, folgt ihrem chemischen Gradienten und strebt eine Gleichverteilung auf beiden Seiten an. Allerdings bleibt dabei die entgegengesetzt geladene Ionensorte zurück, so dass sich in der unmittelbaren Umgebung der Membran ein elektrisches Feld aufbaut, das dem chemischen Gradienten entgegenwirkt. Hat sich auf diese Weise ein Gleichgewicht eingestellt, bei dem der Nettofluss zum Erliegen kommt, ist die elektrische Spannung über der Membran durch die *Nernst-Gleichung* gegeben. Gleichung 2.26 zeigt diese für Kalium(I)-Ionen, die im Ruhezustand das Potential bei den meisten Zellen dominieren. Der Näherungswert von circa -59 mV pro Dekade ergibt sich durch Einsetzen der Boltzmann-Konstanten (k_B), der Elementarladung (e) und einer absoluten Temperatur (T) von 300 K.

2.4. Elektrophysiologie und Zell-Transistor-Kopplung

$$V_{K,0} = -\frac{k_B T}{e} \cdot \ln \frac{[K^+]_{innen}}{[K^+]_{aussen}} \approx -59 \text{ mV} \cdot \lg \frac{[K^+]_{innen}}{[K^+]_{aussen}} \quad (2.26)$$

Falls auch andere Ionensorten passieren können, ergibt sich das Membranpotential aus der „gewichteten Summe“ der jeweiligen Nernstpotentiale. Unter der Annahme, dass sowohl elektrisches Feld, als auch Beweglichkeit der Ionen innerhalb der Kanäle konstant sind, lässt sich für diesen Fall aus dem Fick'schen und dem Ohm'schen Gesetz die berühmte *Goldman-Hodgkin-Katz-Gleichung* (GHK, s. Ausdruck 2.27) herleiten [51]. Sie stellt eine Beziehung zwischen dem (zeitlich veränderlichen) Membranpotential und der Durchlässigkeit der Membran für die einzelnen Ionensorten her, die jeweils mit „P“ und einem entsprechenden Index angegeben wird. Bei diesen Durchlässigkeiten handelt es sich um empirische Werte.

$$V_M(t) \approx -59 \text{ mV} \lg \left(\frac{P_{Na^+}[Na^+]_{innen} + P_{K^+}[K^+]_{innen} + P_{Cl^-}[Cl^-]_{aussen}}{P_{Na^+}[Na^+]_{aussen} + P_{K^+}[K^+]_{aussen} + P_{Cl^-}[Cl^-]_{innen}} \right) \quad (2.27)$$

Um die Verhältnisse in typischen Säugetier-Neuronen zu verdeutlichen, sind alle relevanten Größen in Tabelle 2.1 zusammengefasst. Setzt man die einzelnen Konzentrationen in die GHK-Gleichung ein, erhält man einen Wert von -83 mV. Wie bereits erläutert, liegt dieser Wert im Ruhezustand sehr nahe am Nernstpotential der Kalium(I)-Ionen.

Ionensorte	Intrazelluläre Konz. [mM]	Extrazelluläre Konz. [mM]	V_{Nernst} [mV]	P_i [cm/s]
K^+	135	4	-90	10^{-7}
Na^+	12	140	+63	10^{-9}
Cl^-	4	116	-87	10^{-8}

Tabelle 2.1.: Werte von intra- und extrazelluläre Konzentration, Nernstpotential und Membranpermeabilität für die wichtigsten Ionensorten. Die Angaben sind repräsentativ für Neuronen in Säugetieren [51].

Das Aktionspotential

Im Fall eines *Aktionspotentials* (AP) führt eine Abfolge von Öffnen und Schließen bestimmter Ionenkanäle zu einer zeitlichen Modulation des Membranpotentials.

2. Physikalische und biologische Grundlagen

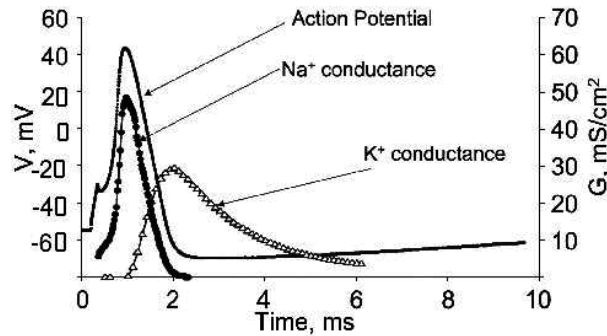


Abbildung 2.16.: Entstehung eines Aktionspotentials: Die Grafik zeigt den Zusammenhang zwischen der Leitfähigkeit der Zellmembran für Natrium(I)- und Kalium(I)-Ionen und dem intrazellulären Potential [52] (mit freundlicher Genehmigung).

Ein solcher Verlauf ist in Abbildung 2.16 dargestellt. Zu Beginn öffnen sich Ionenkanäle, die nur für Na^+ -Ionen durchlässig sind. Dadurch steigt das intrazelluläre Potential schnell auf einen Wert knapp unter dem Nernstpotential von Natrium. Dieser rasche Anstieg führt zum Öffnen von spannungsgesteuerten Kaliumkanälen. Kurz darauf schließen sich die Natrium-Kanäle wieder, so dass das Membranpotential auf seinen ursprünglichen Wert oder sogar knapp darunter abfällt. Innerhalb einiger Millisekunden wird der ursprüngliche Zustand durch Kalium-Natrium-Pumpen wieder hergestellt.

Diese Form von elektrischen Impulsen dient der Kommunikation zwischen Zellen im ganzen Körper. Deshalb ist eine zuverlässige Detektion der APs die Grundlage für die Erforschung dieser Vorgänge. Ferner sind Störungen in obigem Ablauf häufig die Ursache für Erkrankungen, was es erforderlich macht, auch die Signalförm zu detektieren (s. Abschnitt 5.2).

Elektrisches Ersatzschaltbild der Zellmembran

Von der GHK ausgehend schlugen Hodgkin und Huxley ein elektrisches Ersatzschaltbild für die Plasmamembran vor [53]. Da es eine einfache quantitative Betrachtung der Zell-Transistor-Kopplung ermöglicht, kommt es auch in dieser Arbeit zur Anwendung. Die Äquivalenz der Zellmembran mit einem Kondensator wurde weiter oben schon erwähnt. Betrachtet man die Ionenkanäle als veränderliche Leit-

werte und die zugehörigen Nernstpotentiale, die von den Ionenpumpen aufrecht erhalten werden, als Spannungsquellen beziehungsweise Batterien, gelangt man zur in Abbildung 2.17 gezeigten Schaltung.

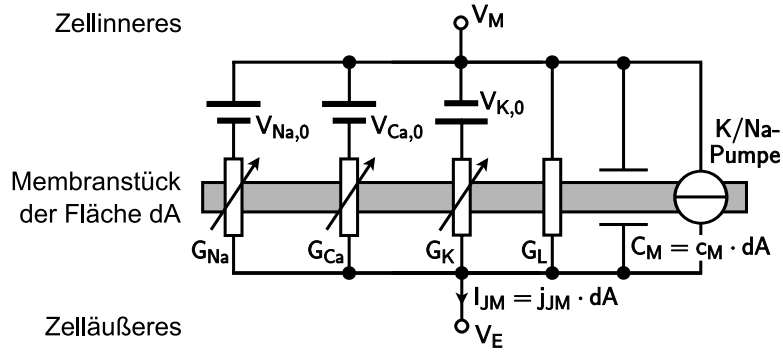


Abbildung 2.17.: Ersatzschaltbild für ein Membransegment der Fläche dA . Man gelangt zu den gängigen Modellen für die Zell-Transistor-Kopplung, indem man sich die Kontaktfläche als Parallelschaltung vieler solcher Segmente vorstellt.

Die Modelle der Zell-Transistor-Kopplung benötigen die flächenbezogene Stromdichte j_{JM} über die Zellmembran als Parameter. Anhand des Ersatzschaltbilds können die einzelnen Beiträge einfach berechnet werden, wie Gleichung 2.28 zeigt: Der erste Term ist der Strom infolge der Leckleitfähigkeit der Membran (g_L). Der zweite stellt einen kapazitiven Anteil dar, der proportional zur (flächenbezogenen) Membrankapazität c_M ist. Die Summe ganz rechts beschreibt die zeitlich veränderlichen Ionenströme infolge von Kanalaktivität ($g_i(t)$). Der Index i steht dabei für Natrium, Kalium, Calcium usw. V_M und V_E sind das Membranpotential bzw. das Potential im Extrazellulärraum.

$$j_{JM}(t) = g_L(V_M - V_E) + c_M \frac{d}{dt}(V_M - V_E) + \sum_i g_i(t)(V_M - V_E - V_{i,0}) \quad (2.28)$$

2.4.3. Patch-Clamp-Technik

Die experimentelle Elektrophysiologie begann in den 40er Jahren des 20. Jahrhunderts. Damals standen nur sehr grobe Untersuchungsmethoden zur Verfügung, wie

2. Physikalische und biologische Grundlagen

beispielsweise das Anstechen von Tintenfisch (engl. squid) Axonen mit mehrere μm dicken Elektroden. Die Methoden wurden aber stetig weiterentwickelt, so dass man schließlich Ströme durch einzelne Ionenkanäle messen konnte [54].

Für Einzelzellaufnahmen *in vitro* ist die *Patch-Clamp-Technik* besonders geeignet. Hierbei wird eine Silber-Silberchlorid-Draht im Inneren einer feinen Pipette für die Messungen verwendet. Die Pipetten werden unmittelbar vor dem Experiment aus einer Glaskapillare hergestellt. Dabei wird das Glas in einem speziellen Gerät beispielsweise von einem Laser geschmolzen und gleichzeitig in die Länge gezogen, so dass eine Verjüngung entsteht. Wird nach dem Erkalten noch weiter Zug auf die Kapillare ausgeübt, zerbricht sie in zwei Teile, die jeweils eine feine, offene Spitze haben. Durch eine geeignete Wahl der Parameter Temperatur und Zeit lassen sich unterschiedliche Geometrien erzielen, so dass Öffnungen von circa 100 nm bis wenige μm Durchmesser möglich sind, wie in Abbildung 2.18 gezeigt.

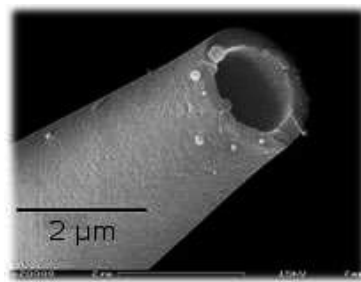


Abbildung 2.18.: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Patchpipette [38].

Die Pipette wird mit Hilfe von Mikromanipulatoren an die Zelle herangeführt. Dabei sorgt ein leichter Überdruck dafür, dass es nicht zu Verstopfungen kommt. Währenddessen wird mit einem Spannungspuls permanent der Widerstand zwischen Pipettenelektrode und einer in der Kulturschale befindlichen Referenzelektrode gemessen. Ist die Zelloberfläche fast erreicht, wird dadurch der Stromfluss erschwert. Der Widerstand steigt. Dies ist das Signal, dass der Überdruck entfernt werden kann. Im günstigsten Fall schließt die Plasmamembran daraufhin dicht mit der Pipettenöffnung ab, so dass der Widerstand einen Wert von mehr als $1\text{ G}\Omega$ annimmt. Andernfalls kann man mit einem leichten Unterdruck oder einer negativen Elektrodenspannung nachhelfen. Ist diese Konfiguration (engl. *cell-attached*), wie in Grafik 2.19 gezeigt, einmal erreicht, ergeben sich zwei Möglichkeiten: Entweder

2.4. Elektrophysiologie und Zell-Transistor-Kopplung

die Pipette wird zurückgezogen, so dass ein kleines Stück Membran (engl. *patch*) an ihrer Spitze verbleibt, oder man appliziert erneut einen leichten Unterdruck, um die Zellmembran aufzubrechen.

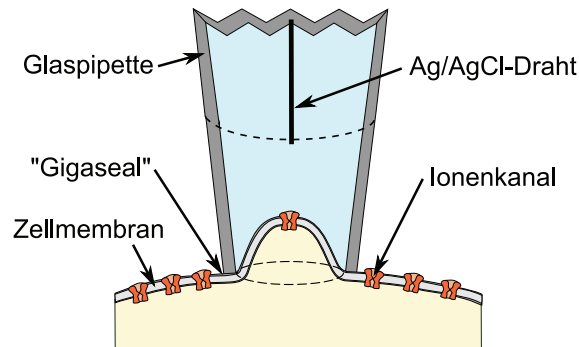


Abbildung 2.19.: Schematische Darstellung zur cell-attached Konfiguration. Die Pipette ist zwar schon mit der Zellmembran in Kontakt, aber die Zelle muss erst noch geöffnet werden, um in die whole-cell Konfiguration zu gelangen, die benötigt wird, um den Zell-Transistor-Kontakt quantitativ zu untersuchen.

Erstere Variante eignet sich für die Untersuchung einzelner Ionenkanäle, die sich in diesem Patch befinden. Erwin Neher und Bert Sakmann wurden für diese Arbeiten 1991 mit dem Nobelpreis für Physiologie oder Medizin ausgezeichnet. Soll die Zell-Transistor-Kopplung untersucht werden, wählt man die zweite Variante. Da die Membran unter der Pipette entfernt wird, besteht ein leitender Kontakt zwischen der Elektrode und dem Zellinneren (engl. *whole-cell configuration*).

Dies kann man sich in vielfältiger Weise zu Nutze machen: Einerseits kann das Membranpotential gezielt verändert (engl. *voltage-clamp*), und damit spannungsabhängige Ionenkanäle geöffnet werden. Eine gleichzeitige Messung des Elektrodenstroms ermöglicht Rückschlüsse auf die Kanaldynamik. Darüber hinaus kann auch eine kleine Wechsellspannung angelegt werden, die keine aktive Reaktion der Zelle auslöst, aber impedanzspektroskopische Untersuchungen ermöglicht. Andererseits lässt sich auch ein definierter Strom (engl. *current-clamp*) in die Zelle injizieren. Auch so lassen sich das Membranpotential beeinflussen, und entsprechende Ionenkanäle aktivieren. Währenddessen kann der Potentialverlauf beobachtet werden. Durch eine gleichzeitige Messung des Transistorstroms können die Ergebnis-

2. Physikalische und biologische Grundlagen

se miteinander verglichen werden, um daraus eine quantitative Beschreibung der Kopplung zu erhalten.

2.4.4. Zell-Transistor-Kopplung

Um die Zell-Transistor-Kopplung zu verstehen, betrachtet man den Teil der Zellmembran, der mit dem Substrat in Kontakt ist. Entscheidend ist, dass der Spalt zwischen Zelle und Transistor je nach Zellart nur ca. 60 nm - 100 nm beträgt, so dass der Widerstand von der Mitte der Zelle zu deren Rand (engl. *junction resistance*, R_J) einen Wert von einigen Megaohm erreichen kann [55]. Das heißt, die extrazellulären Ströme, die die Zelle generiert (s. Abbildung 2.17 und Gleichung 2.28), führen in diesem Bereich zu einem Spannungsabfall.

Die Nernst-Planck-Gleichung ermöglicht zusammen mit der Poisson-Gleichung und den Kontinuitätsgleichungen für die einzelnen Ionensorten (s. Gleichungen 2.29) eine selbstkonsistente Berechnung des elektrischen Potentials und der Ionenkonzentrationen überall im Spalt [56], wie in Abbildung 2.20 angedeutet.

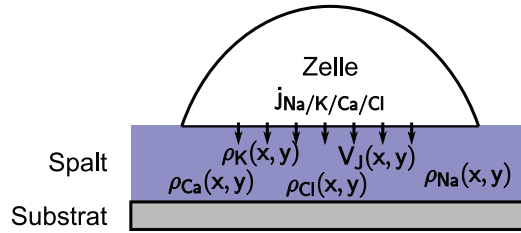


Abbildung 2.20.: Darstellung der Variablen, die durch das Gleichungssystem aus Nernst-Planck-Gleichung, Poisson-Gleichung und den Kontinuitätsgleichungen in Beziehung gesetzt werden.

$$\begin{aligned}
 \mathbf{j}_i(\mathbf{r}, t) &= -D_i \cdot \left(\nabla \rho_i(\mathbf{r}, t) + \frac{z_i e}{k_B T} \rho_i(\mathbf{r}, t) \nabla V_J(\mathbf{r}, t) \right) \\
 \Delta V_J(\mathbf{r}, t) &= -\frac{1}{\epsilon_0 \epsilon_r} \cdot \sum_i \rho_i(\mathbf{r}, t) \\
 \nabla \cdot \mathbf{j}_i(\mathbf{r}, t) + \frac{\partial \rho_i(\mathbf{r}, t)}{\partial t} &= \lambda_i
 \end{aligned} \tag{2.29}$$

Hierbei ist j_i ist die Stromdichte, D_i die Diffusionskonstante im Elektrolyt, ρ_i die Ladungsdichte, z_i die Ladungszahl und λ_i der Quellterm (beispielsweise Ein-

2.4. Elektrophysiologie und Zell-Transistor-Kopplung

strom durch die Membran) für die jeweilige Ionensorte i . V_j gibt das Potential an und die Konstanten e , k_B und T sind Elementarladung, Boltzmannkonstante und Temperatur. Die fettgedruckten Größen sind Vektoren.

Die Lösung dieses Gleichungssystems überschreitet den Rahmen dieser Arbeit. Dennoch sei auf seine große Bedeutung in Elektrochemie und Biophysik hingewiesen. Darüber hinaus ist es eng mit dem Gleichungssystem verwandt, das in der Elektrotechnik für den Ladungstransport in Halbleitern verwendet wird (Poisson-Gleichung, Drift-Diffusions-Gleichung und Kontinuitätsgleichungen für Elektronen und Löcher). Daher handelt es sich um ein Beispiel für die Verwandtschaft zwischen den hier diskutierten biophysikalischen Fragestellungen und der klassischen Elektrotechnik.

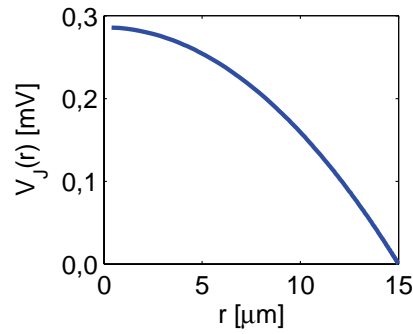


Abbildung 2.21.: Potentialverlauf im Spalt zwischen Zelle und Transistor. Das Beispiel bezieht sich auf eine Zelle mit $15 \mu\text{m}$ Radius unter physiologischen Bedingungen ($\lambda_{K^+} = 11 \text{ pA } \mu\text{m}^{-3}$, $T = 300 \text{ K}$, $D_{K^+} = 2,0 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ und $n_{tot}^B = 1,75 \cdot 10^{26} \text{ m}^{-3}$) [56].

Für einfache Geometrien lässt sich das Spannungsprofil unter der Zelle analytisch berechnen. Details zur mathematischen Lösung des Problems im Falle einer kreisförmigen Kontaktfläche finden sich in Pabst et al. [56]. Für den Fall, dass der Radius der Zelle R deutlich größer ist, als die Debye-Länge, die unter physiologischen Bedingungen nur einige Nanometer beträgt, und dass das Potential sich ausschließlich in radialer Richtung ändert, gibt Gleichung 2.30 die Abhängigkeit der durch einen Kaliumausstrom hervorgerufenen Spannung von verschiedenen Parametern an:

2. Physikalische und biologische Grundlagen

$$V_J(r) = \frac{\lambda_{K^+} k_B T}{4 D_{K^+} e^2 n_{tot}^B} (R^2 - r^2) \quad (2.30)$$

Dabei sind k_B die Boltzmann-Konstante, T die absolute Temperatur, e die Elementarladung, D_{K^+} die Diffusionskonstante für Kalium, λ_{K^+} der Einstrom von Kalium(I)-Ionen in den Spalt pro Volumen $dA \cdot d$ und d die Dicke des Spalts. n_{tot}^B ist die Summe aller Ionenkonzentrationen multipliziert mit ihrer jeweiligen Valenz. Abbildung 2.21 illustriert diesen Zusammenhang für eine Zelle mit $15 \mu\text{m}$ Radius unter physiologischen Bedingungen.

Da dieses Verfahren für diese Praxis etwas unhandlich ist, ist es üblich, elektrische Ersatzschaltbilder zu verwenden, um die Verhältnisse im Spalt zu beschreiben. Dieses Vorgehen berücksichtigt nur das (ortsabhängige) elektrische Potential und verzichtet auf eine explizite Berücksichtigung der Ionenkonzentrationen. In Abbildung 2.22 ist ein Ausschnitt eines solchen Ersatzschaltbilds dargestellt. Durch Anwenden der Kirchhoff'schen Gleichungen ist es möglich analytische Ausdrücke für einfache Geometrien herzuleiten [55, 57]. Für eine kreisförmige Kontaktfläche ergibt sich beispielsweise:

$$V_J(r) = \frac{\rho_{JM}}{4d} (R^2 - r^2) \quad (2.31)$$

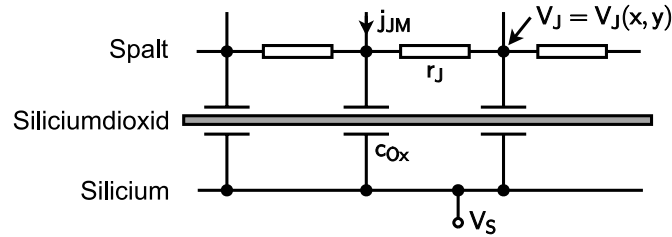


Abbildung 2.22.: Im Flächenkontaktmodell werden sowohl Zellmembran, Oxidkapazität und Spaltwiderstand in eine Reihe von elektrischen Bauelementen unterteilt. Führt man einen Grenzübergang für ein infinitesimal kleines Membransegment durch, gelangt man zu einer Differentialgleichung, die sich in Spezialfällen analytisch lösen lässt.

Diese Gleichung unterscheidet sich von der Lösung der Nernst-Planck-Gleichung nur durch die Konstanten. Mit den folgenden Beziehungen lässt sich zeigen, dass

2.4. Elektrophysiologie und Zell-Transistor-Kopplung

diese äquivalent sind. Dabei sind ρ der spezifische Widerstand des Elektrolyts, μ_{K^+} die Mobilität der Kalium(I)-Ionen und d die Dicke des Spalts.

$$\rho = \frac{1}{\mu_{K^+} n_{tot}^B e} = \frac{k_B T}{D_{K^+} e^2 n_{tot}^B}$$

$$\lambda_{K^+} \cdot d = j_{JM} \quad (2.32)$$

In komplizierteren Fällen kann das elektrische Netzwerk mit Schaltungssimulationen, wie etwa Spice, beschrieben werden um eine numerische Lösung zu erhalten.

Fasst man die flächenbezogenen Elemente aus Ersatzschaltbild 2.22 zu jeweils einer effektiven Kapazität und einem effektiven Widerstand zusammen, gelangt man zu einer weiter vereinfachten Darstellung, dem Punktkontakt-Modell. Es wird hier auf eine räumliche Auflösung des elektrischen Potentials verzichtet. Allerdings lassen sich die resultierenden Gleichungen immer analytisch lösen:

$$V_J = R_J \cdot I_{JM}$$

$$I_{JM} = \int_0^R j_{JM}(r) \cdot dr \quad (2.33)$$

Verschiedene Geometrien können durch einen Korrekturfaktor (η) berücksichtigt werden, der einen Zusammenhang zwischen dem effektiven Spaltwiderstand R_J und seinem flächenbezogenen Pendant herstellt:

$$R_J = \frac{r_J}{\eta} \quad (2.34)$$

Damit eignet sich dieses Modell besonders für Abschätzungen und den Vergleich verschiedener Messungen über den Abdichtwiderstand R_J als einzigem Parameter. Obwohl es sich um die einfachste Beschreibungsform handelt, trifft sie die Verhältnisse bei der Zell-NW-Kopplung gut. Da sich die NWs zumindest in einer Richtung nicht über einen größeren Bereich unter der Zelle erstrecken, lässt sich so eine effektive Gate-Spannung berechnen bzw. aus der Messung derselben auf R_J schließen.

2. Physikalische und biologische Grundlagen

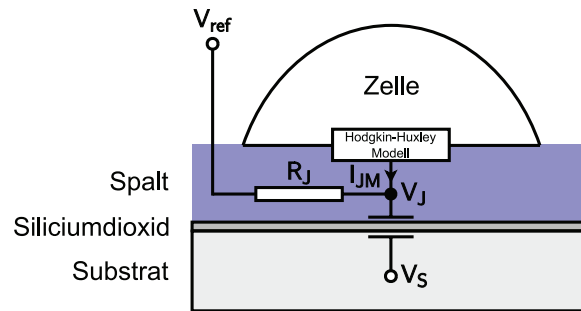


Abbildung 2.23.: Das Punktkontakt-Modell beschreibt den Zell-Transistor-Kontakt lediglich mit einzelnen, konzentrierten Bauelementen für jede beteiligte Region.

Damit endet diese allgemeine Einführung. Im Weiteren wird immer wieder auf diese grundlegenden Sachverhalte zurückgegriffen. An geeigneter Stelle werden aber auch Ergänzungen vorgenommen, wenn weiteres Wissen erforderlich ist. Das nun folgende Kapitel behandelt die Herstellung und das Layout der Chips und schlägt so die Brücke zwischen obiger Theorie und ihrer Anwendung auf die Ergebnisse der Experimente.

3. Herstellung der Chips

Die Form selbst, wenn sie auch ganz abstrakt ist und einer geometrischen gleicht, hat ihren inneren Klang, ist ein geistiges Wesen mit Eigenschaften, die mit dieser Form identisch sind.

(Wassily Kandinsky, russischer Maler, Grafiker und Kunsttheoretiker, 1866 - 1944)

3.1. Einleitung

Aus der Tatsache, dass die fertigen Chips sich für die Kultivierung von Zellen eignen müssen, ergeben sich einige wichtige Forderungen:

- Die verwendeten Materialien müssen *biokompatibel* sein, d.h. von den Zellen vertragen werden.
- Da ein Betrieb in einer wässrigen Umgebung nötig ist, müssen Strom führende Bereiche zuverlässig isoliert, man sagt auch *passiviert*, werden.
- Ein Betrieb in dieser für elektronische Bauteile feindlichen Umgebung schränkt die Lebensdauer erheblich ein. Daher muss es möglich sein einfach und in einem reproduzierbaren Prozess eine große Zahl von Chips mit Nanowires zu erhalten.
- Aus experimenteller Sicht ist eine hohe Integrationsdichte wünschenswert, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass sich Zellen auf den NWs befinden.

Aufgrund dieser Anforderungen wurde ein Verfahren entwickelt, das im Kern auf einer Kombination von *Nanoimprintlithografie* (NIL) und *anisotropem, nasschemischem Ätzen* von *Silicium-on-Insulator* (SOI) Wafern beruht. Da die meisten anderen Schritte als Standard am Institut für Bio- und Nanosysteme (und auch darüber hinaus) gelten können und bereits publiziert wurden, richtet sich das Augenmerk in diesem Kapitel auf diese neuen Schritte. Dies soll die Übersichtlichkeit erhöhen und mehr Raum für Erläuterungen zu den verwendeten Parametern

3. Herstellung der Chips

lassen. Im nächsten Abschnitt folgen zunächst Erläuterungen zu den kritischen Fertigungsschritten, der Integration zu einer kompletten Prozessführung, sowie Grafiken aus der Prozesssimulation zur Veranschaulichung. Ab Seite 59 wird das Layout der Chips beschrieben. Darüber hinaus sind ergänzende Angaben zu Parametern, Geräten, und Chemikalien in Anhang A.3 zusammengefasst. Ab Seite 59 wird das Layout der Chips beschrieben. Darüber hinaus sind ergänzende Angaben zu Parametern, Geräten, und Chemikalien in Anhang A.3 zusammengefasst.

3.2. Vom Substrat zur Strukturierung

3.2.1. Silicon-on-Insulator Technologie

Die Silicon-on-Insulator Technologie hat ihren Namen von den speziellen Substraten, die verwendet werden. Sie besitzen eine Siliciumschicht für die Fertigung elektronischer Bauelemente an der Oberfläche. Darunter befindet sich eine vergrabene Schicht aus Siliciumdioxid (engl. *burried oxide*, *BOX*) als Isolator und schließlich der Träger (engl. *carry wafer*) aus Silicium, der für die mechanische Stabilität sorgt. Für die Entwicklung dieser Technologie gab es ursprünglich verschiedene Gründe, wie beispielsweise Vorteile bei der Geschwindigkeit, bessere Eigenschaften bei hohen Temperaturen und Unempfindlichkeit gegen ionisierende Strahlung [58].

In dieser Arbeit stand im Vordergrund, dass die NWs direkt durch Freiätzen hergestellt werden können, wie bereits mehrfach publiziert wurde [25, 59–61]. Dabei dient das BOX als zuverlässiger Ätzstop. Da die Isolation zwischen den Bauelemente nicht durch pn-Übergänge erfolgt, sind ferner hohe Integrationsdichten möglich, die im Wesentlichen durch die Auflösung der Strukturierungsmethoden limitiert sind. Für alle Chips wurden Wafer von SOITEC S.A. (Bernin, Frankreich) verwendet. Die Spezifikationen sind in Tabelle 3.1 zusammengestellt.

Die Wahl fiel auf genau diese Substrate, da sie den größten prozessierbaren Durchmesser besaßen und das BOX dick genug war, um vor allem bei der Öffnung der Passivierung mit Flusssäure genügend Spielraum zu haben. Außerdem ist das Smart CutTM Verfahren von Soitec dafür bekannt, ein besonders günstiges Rauschverhalten zu ermöglichen, da hier die Grenze zwischen Bauelementschicht und BOX die höchste Qualität aufweist [62]. Für Details zur Herstellung von SOI-Wafern sei auf das Review von Celler et al. verwiesen [58]. Lediglich die Dicke

3.2. Vom Substrat zur Strukturierung

Generell	
Durchmesser	100 mm
Herstellungsmethode	Smart Cut™
Bauelementschicht	
Wachstumsmethode	keine Oberflächendefekte (COP)
Dotierung	P dotiert (Bor)
spezifischer Widerstand	14 - 22 Ωcm
Orientierung	(100)
Dicke $\pm 3 \sigma$	340 \pm 44 nm
Vergrabenes Oxid	
Dicke	400 nm
Carry Wafer	
Wachstumsmethode	Czochralski Verfahren
Dotierung	P dotiert (Bor)
spezifischer Widerstand	14 - 22 Ωcm
Dicke	525 \pm 15 μm

Tabelle 3.1.: Spezifikationen der verwendeten SOI-Wafer.

der Bauelementschicht entsprach nicht den Anforderungen. Wegen des anisotropen Ätzens (s. Abschnitt 3.2.3) bestimmte diese die minimale Breite der NW. Daher musste sie ausgedünnt werden, wobei gleichzeitig eine Maskierung (SiO_2) für das anisotrope Ätzen erhalten wurde (s. Tabelle 3.2). Die resultierende Dicke des Siliciums und des Oxids betrug zwischen 50 nm und 70 nm beziehungsweise circa 100 nm. Die Variation bei der Dicke des Siliciums bestand größtenteils bereits im gelieferten Substrat. Bei den Oxidationen hingegen traten nur geringe Abweichungen vom Sollwert auf.

Wie zu Beginn angesprochen hat die SOI-Technologie gegenüber „klassischen“ Substraten eine Reihe von Vorteilen. In praktischer Hinsicht ergaben sich allerdings einige Schwierigkeiten. Sie werden an dieser Stelle vorgestellt werden, da sie für die Reproduzierbarkeit des Gesamtprozesses von großer Bedeutung sind: Das BOX wirkte bei der Nanoimprintlithografie (s. nächster Abschnitt) als Wärmeisolator. Deshalb mussten bei diesem Schritt sowohl Temperatur, als auch Druck

3. Herstellung der Chips

#	Prozessschritt	Kommentar
A1	RCA-Reinigung	s. Tabelle A.7
A2	therm. Oxidation	Ausdünnen der Bauelementschicht
A3	Flusssäure(HF)-Ätzung	Entfernen des Oxids
A4	therm. Oxidation	Erzeugen der Hartmaske für die folgende nasschemische Ätzung

Tabelle 3.2.: Protokoll für Prozessabschnitt A: Ausdünnen der Bauelementschicht.

gegenüber herkömmlichen Testwafern aus (100)-Silicium erhöht werden. Darüber hinaus verhielt sich das Mehrschichtsystem beim *reaktiven Ionenätzen* (engl. *reactive ion etching, RIE*) anders. Aus unbekanntem Grund waren die Ätzraten durchweg um etwa 5 - 10 % geringer, als bei reinen Siliciumsubstraten. Außerdem führten die veränderten optischen Eigenschaften dazu, dass die *in situ* Kontrolle mit Laserinterferometrie weniger verlässliche Ergebnisse lieferte.

3.2.2. Nanoimprintlithografie

Bei der Nanoimprintlithografie handelt es sich um ein Prägeverfahren zur Herstellung von Strukturen bis zu einer Untergrenze von wenigen Nanometern. Da es zur Strukturierung ganzer Wafer geeignet ist, handelt es sich hierbei wie gewünscht um eine einfache und kostengünstige Methode, die zudem eine hohe Reproduzierbarkeit aufweist [63].

Grundsätzlich beruht der Prozess auf der mechanischen Verformung einer auf dem Substrat befindlichen Lackschicht (engl. *resist*) mittels einer Abdruckform (engl. *mold*). Der Lack wird durch gängige Verfahren (beispielsweise Aufschleudern) auf das Substrat aufgebracht. Dort wird er entweder unter Temperatureinwirkung ausgehärtet und während des Prägevorgangs durch erneutes Erhitzen über die Glasatemperatur in einen viskosen Zustand versetzt (*thermische NIL*) oder bleibt zunächst dickflüssig und wird erst im geformten Zustand durch ultraviolette Strahlung ausgehärtet (*UV-NIL*). Das Verformen des Lacks geschieht in beiden Varianten durch das Zusammenpressen von Mold und Substrat. Abbildung 3.1 veranschaulicht diesen Ablauf.

Bei der NIL ergeben sich zwei wesentliche Unterschiede zu den herkömmlichen

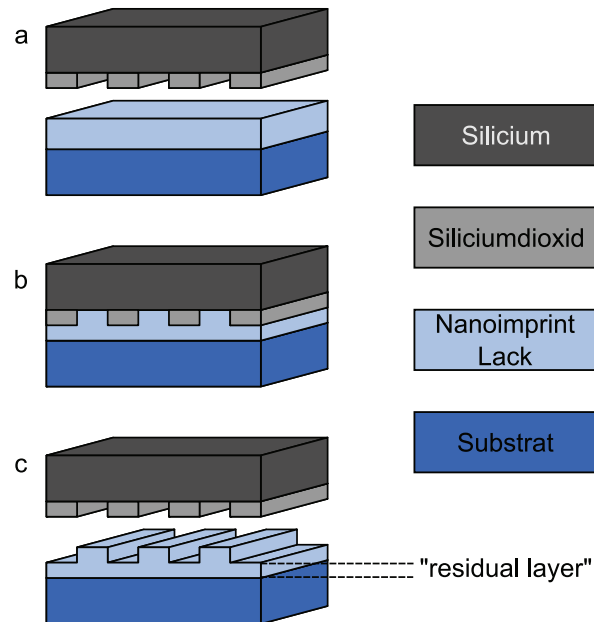


Abbildung 3.1.: Ablaufschema der Nanoimprint-Lithografie. (a) zeigt das Zusammenfügen von Mold und (belacktem) Substrat. In Schritt (b) wird die Topologie vom Mold in den Lack übertragen. Nach dem Aushärten des Lacks und dem Entfernen des Molds bleibt die strukturierte Lackschicht auf dem Substrat zurück (c).

Lithografieverfahren (optisch oder Elektronenstrahl): Zum einen findet keine selektive chemische Umwandlung des Lacks statt. Das heißt, ein Entwicklungsschritt entfällt. Andererseits bleibt auch außerhalb der erwünschten Strukturen eine Restschicht (engl. *residual layer*) übrig (s. Abbildung 3.1 (c)). Diese muss vor der weiteren Bearbeitung des Substrats durch einen anisotropen Ätzschritt entfernt werden. Daher muss die Dauer so gewählt werden, dass der strukturierte Bereich so wenig wie möglich beschädigt wird, die Restschicht aber vollständig beseitigt wird.

Sollen in einem Schritt Topologien übertragen werden, die stark in der Größe variieren, wird dies durch einen Effekt erschwert, der in einer Publikation als *Printing Proximity Effect* bezeichnet wurde [64]: Beim Füllen der Hohlräume im Stempel muss Lack in diese hineinfließen. Da der Lack auch im verflüssigten Zustand eine hohe Viskosität besitzt, stammt dieses Material nur aus der direkten Umgebung

3. Herstellung der Chips

(wenige zehn μm). Dies resultiert in einer ungleichmäßigen Restdicke des Lacks, wie Grafik 3.2 zeigt.

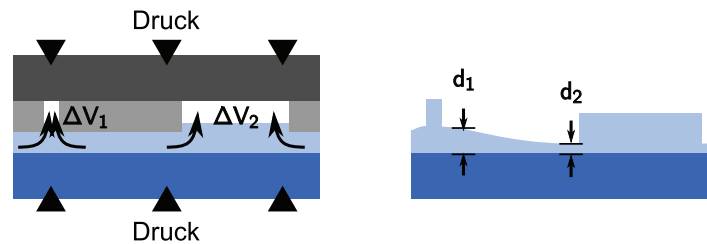


Abbildung 3.2.: Der Printing Proximity Effekt. Die Strukturgröße und -dichte hat einen Einfluss auf die Dicke des Residual Layers. Weil links das relativ kleinere Volumen ΔV_1 gefüllt werden muss, ist diese dort größer (d_1), als rechts (d_2), wo sich eine größere Struktur mit dem Volumen ΔV_2 befindet.

Nach dieser allgemeingültigen Beschreibung des Verfahrens, wird nun konkret gezeigt, wie es im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt wurde. Die Wahl fiel auf die thermische NIL, da das Mold für diese Variante im institutseigenen Reinraum aus handelsüblichen Silicium Wafern selbst gefertigt werden konnte (s. Abschnitt A.2). Die eigentlichen Prägungen wurden jeweils in folgender Weise durchgeführt:

- Zunächst wurden Mold und Substrat vorbereitet. Wegen der mechanischen Übertragung der Strukturen wurde dabei noch stärker auf Sauberkeit geachtet, als in den übrigen Schritten. Denn ein einzelner Partikel konnte in einem Umkreis von mehreren Millimetern verhindern, dass Mold und Substrat in Kontakt kamen und so bis zu neun Chips zerstören. Deshalb wurde das Mold vor jeder Serie von Imprints für mindestens 15 Minuten in einer mit Aceton gefüllten Küvette unter Einwirkung von Megaschall gereinigt. Bei Bedarf wurden Reste des Imprintlacks mit Schaumstoffstäbchen vorsichtig entfernt. Außerdem wurde vor den SOI-Wafern immer ein Testwafer verwendet. Angelöste Partikel blieben daran haften, was einen weiteren säubernden Effekt hatte.
- Das Belacken der Substrate erfolgte mit Spritzen durch Filter mit einer Porengröße von 200 nm. Als Lack wurde der auf *Polymethylmethacrylat* (PMMA) basierende „NXR 1020“ von NANONEX verwendet. Er wurde bei 3000 U/min aufgeschleudert und danach für 20 Minuten bei 90 °C gebacken.

3.2. Vom Substrat zur Strukturierung

- Danach wurde das Substrat in die Nanoimprintmaschine (NX-2000, NANO-NEX) eingelegt und mit Druckluft gereinigt. Dann wurde das Mold von Hand so positioniert, dass beide Flats zur Deckung kamen. Eine genauere Justierung war nicht erforderlich.
- Der Imprint selbst bestand aus drei Schritten: Zunächst wurde durch 4-minütiges Abpumpen der Luft aus der Prozesskammer ein Vakuum zwischen den Wafern erzeugt, so dass diese fest aneinander hafteten. Danach wurde die Kammer auf 150 °C aufgeheizt und ein Druck von 200 psi = $1,4 \cdot 10^6$ Pa appliziert. Der Hauptimprint wurde bei einer Temperatur von 170 °C und einem Druck von 500 psi = $3,4 \cdot 10^6$ Pa durchgeführt. Nach sechs Minuten wurde die Heizung abgeschaltet, so dass die Probe abkühlte, und der strukturierte Lack sich wieder verfestigte. Bei einer Temperatur von 35 °C wurde schließlich der Überdruck abgelassen.

Nach dem Imprint wurden die Strukturen mittels RIE in das SiO₂ übertragen, um die Hartmaske für das nasschemische Ätzen zu erhalten: Als Erstes wurde der Residual Layer entfernt. Aufgrund des Proximity Effekts gelang das häufig nicht vollständig (s. Abbildung 3.3). Da die Ätzrate ferner nicht absolut gleichmäßig war, beeinträchtigte dieser Schritt die Reproduzierbarkeit und sollte in Zukunft optimiert werden (s. Diskussion auf Seite 64). Das Ätzen des Siliziumoxids dagegen war unproblematisch und konnte gut mit dem Interferometer kontrolliert werden. Die vollständigen Parameter befinden sich in Tabelle A.2 im Anhang.

3.2.3. Anisotropes Ätzen mit Tetramethylammoniumhydroxid

Nach der Strukturierung durch NIL und RIE folgte das Ätzen der Nanodrähte. Für diesen Schritt wurde ein Verfahren benötigt, das die laterale Dimension der NWS weitestgehend unverändert ließ, aber die Siliciumschicht außerhalb der Maskierung in vertikaler Richtung entfernte.

Wird ein Substrat, wie in diesem Fall, in unterschiedlichen Richtungen unterschiedlich schnell geätzt, spricht man von *anisotropem Ätzen*. Beim nasschemischen Ätzen von Silicium kommt dieses Verhalten von unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der einzelnen Kristallebenen [65]. So werden {111}-Ebenen wesentlich langsamer geätzt als beispielsweise {100}- oder {110}-Ebenen, da ihre Oberfläche-

3. Herstellung der Chips

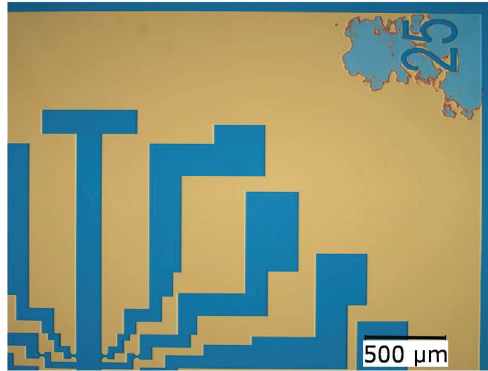


Abbildung 3.3.: Unvollständig geätzte Struktur als Folge des Printing Proximity Effekts. In der rechten oberen Ecke wurde das Silicium nicht komplett entfernt, so dass ein ausgefranster Rest zurückblieb.

natome nur eine freie Bindung (engl. *dangling bond*) besitzen und die Bindungen zu den Nachbaratomen energetisch am stabilsten sind. Die gebräuchlichsten Chemikalien waren lange Zeit die Mischung von *Ethylendiamin*, *Pyrocatechol* und Wasser (*EDP*), sowie die wässrige Lösung von *Kaliumhydroxid* (*KOH*). Anfang der 1990er Jahre wurde desweiteren die wässrige Lösung von *Tetramethylammoniumhydroxid* (*TMAH*) etabliert [66].

Die Methode des anisotropen Ätzens wird häufig in der Mikromechanik eingesetzt, um Gräben, Membranen oder pyramidenförmige Spitzen zu erzeugen. Mit der Verwendung der SOI-Substrate ergeben sich durch den „eingebauten“ Ätzstop noch weitere Möglichkeiten (siehe Grafik 3.4). Itoh et al. veröffentlichten 1991 erstmals einen Weg, um auf diese Weise Siliciumdrähte mit 200 nm Breite herzustellen [59].

TMAH erhielt im vorgestellten Prozess den Vorzug vor anderen Chemikalien und RIE. Seine Vorzüge sind, dass es ungiftig und frei von Metallionen ist, was es kompatibel mit Standard-CMOS-Prozessen macht. Darüber hinaus können äußerst glatte Oberflächen erzeugt werden [66, 67]. Da erhöhte Oberflächenrauigkeit [68, 69] und der Ionenbeschuss bei RIE-Ätzung zu verstärktem Rauschen führen [70–72], war dies eine wichtige Voraussetzung, um eine hohe Empfindlichkeit zu erzielen, wie Stern et al. bereits nachgewiesen haben [25].

Unter Berücksichtigung der Literatur wurden die Parameter für die Ätzung so

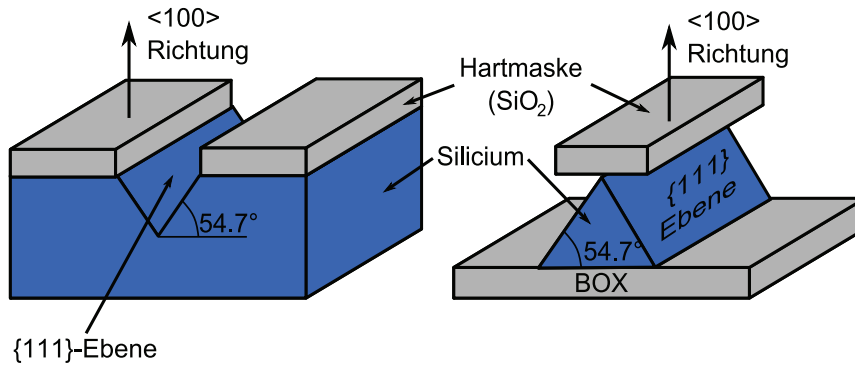


Abbildung 3.4.: Schematische Darstellung zum anisotropen Ätzen von Silicium. Links ist eine typische Grabenstruktur zu sehen, wie sie in der Mikromechanik vorkommt. Durch die Verwendung des SOI-Substrats (rechts) können auf ähnliche Weise Nanodrähte erzeugt werden.

gewählt, dass glatte Oberflächen und eine hohe Reproduzierbarkeit gewährleistet waren (s. Tabelle 3.3). Der Hersteller Riedel de Haën wurde dabei ausdrücklich von Herrn Schnakenberg mündlich empfohlen, da er in seiner langjährigen Praxis die beste Erfahrung mit diesem Produkt gemacht hatte.

Merkmal	Wert
Konzentration	25%
Temperatur	90°C (im Wasserbad)
beobachtete Ätzrate <100>	ca. 600 nm/min
beobachtete Ätzrate <111>	25 nm/min
Hersteller	Riedel de Haën
Reinheitsgrad	SEMI Standard Grade 2

Tabelle 3.3.: Parameter der TMAH-Ätzung (Prozessabschnitt C).

Bei der Durchführung der Ätzung erwies es sich als wichtig, das native SiO₂ vollständig zu entfernen, weil es von TMAH nicht geätzt wird. Hierfür wurden die Proben 30 Sekunden lang in 1%-ige Flusssäure getaucht. Um die Beschädigung der Hartmaske zu minimieren, sollte diese Zeit nicht überschritten werden. Nach

3. Herstellung der Chips

einer Reinstwasserspülung wurde unmittelbar mit der TMAH-Ätzung begonnen. Prinzipiell konnte in diesem Schritt die Breite der NWs durch gezielte Unterätzung beeinflusst werden. Darauf wurde verzichtet und eine Zeit von 30 bis 45 Sekunden gewählt, um alles unerwünschte Silicium zu entfernen, was gut durch eine Verfärbung der Wafer zu erkennen war.

3.3. Integration zu einem vollständigen Prozess

3.3.1. Prozessabschnitte

Nach den obigen Schritten, erfolgten das Wachsen und Öffnen einer Passivierung, so dass nur die NW in Kontakt mit dem Elektrolyt kamen. Auf ihnen wurde durch thermische Oxidation ein Gate-Oxid von hoher Qualität erzeugt. Schließlich wurden die Kontakte lithografisch geöffnet und Zuleitungen mit einem *Lift-Off* Schritt strukturiert. Tabelle 3.4 fasst die grundlegenden Abschnitte des Prozesses zusammen. Sofern sie nicht schon beschrieben wurden, befinden sich die Details in Anhang A.3.

#	Prozessabschnitte
A	Ausdünnen der Bauelementschicht
B	Strukturieren der Hartmaske
C	Anisotropes Ätzen des Siliciums
D	Implantation der Zuleitungen
E	Aufwachsen und Öffnen der Passivierung
F	Gate-Oxidation
G	Metallisierung für die Zuleitungen
H	Verkapselung

Tabelle 3.4.: Ablauf des gesamten Prozesses. Die einzelnen Abschnitte sind in Anhang A.3 ausführlicher dargestellt.

3.3.2. Modifikationen

Der gesamte Prozess wurde insgesamt vier Mal gestartet und zwei Mal beendet. Währenddessen wurden aufgrund der Erfahrung aus den vorhergegangenen Durchläufen verschiedene Veränderungen vorgenommen: Zum einen hatte sich gezeigt, dass die NW nach der Implantation im zweiten Schritt der RCA-Reinigung (H_2O_2 und NH_3OH , s. Tabelle A.7) stark beschädigt werden konnten. Zum anderen führte eine Passivierung aus LPCVD-Oxid, PECVD-Nitrid und LPCVD-Oxid zu so starken mechanischen Spannungen, dass diese Schichten inklusive der oberen Siliciumschicht bei der weiteren Prozessierung rissen. Da beides zu einem Verlust der Proben geführt hatte, mussten diese Risiken vermieden werden. In der Konsequenz wurden alle RCA-Reinigungen durch Piranha-Reinigungen (H_2O_2 und H_2SO_4) ersetzt, sowie eine einfache Schicht aus LPCVD-Oxid als Passivierung verwendet. Desweiteren wurde im dritten Durchlauf in REM-Aufnahmen festgestellt, dass das Abscheiden und Öffnen der Passivierung zu einer erhöhten Rauigkeit der NW geführt hatte. Um dies zu vermeiden wurde beim vierten Mal zunächst ein dünnes thermisches Oxid als Schutzschicht gewachsen, dann das LPCVD-Oxid abgeschieden und geöffnet und schließlich erneut ein thermisches Oxid als Dielektrikum gewachsen. Ein positiver Effekt konnte später mit dem REM bestätigt werden. Außerdem wurden das Layout der Transistoren verändert (s. Tabelle 3.5), um Skalierungseffekte besser untersuchen zu können, und die Dotierung der Zuleitungen erhöht (s. Anhang A.3), um bessere elektrische Eigenschaften zu erhalten.

3.3.3. Simulation

Um eine bessere Vorstellung über die Abläufe bei der Prozessierung zu erhalten, wurden die experimentellen Untersuchungen durch Simulationen unterstützt. Hierfür wurde das Programm SENTAURUS PROCESS in der Version Z-2007.03 (SYNOPSIS) mit den Standardmodellen für Oxidation und Diffusion verwendet. Die TMAH-Ätzung musste aus zwei anisotropen Schritten zusammengesetzt werden: Einen für den senkrechten Teil und eine für die Unterätzung. Andernfalls verursachte die Software an den {111}-Ebenen auch bei hoher Auflösung Fehler. Der kommentierte Simulationscode befindet sich in Anhang A.6.

In den folgenden Grafiken sind die Ergebnisse jeweils im Querschnitt dargestellt. Die lateralen Abmessungen sind nicht maßstäblich, damit die einzelnen

3. Herstellung der Chips

Schichten besser zu erkennen sind. Sie sind farblich so markiert: Nanoimprint-Lack (beige), p-Silicium (blau), thermisches SiO_2 (dunkelbraun), LPCVD-Oxid (ocker), p^+ -Silicium (rot) und die Metallisierung (grau). Abbildung 3.5 zeigt die Schritte, die zur Herstellung der NW erforderlich sind. Die endgültige Struktur ist in Abbildung 3.6 zu sehen. Man erkennt den trapezförmigen Querschnitt der NW, die Unterätzung des BOX und die Passivierung, die höher ist, als das NW selbst.

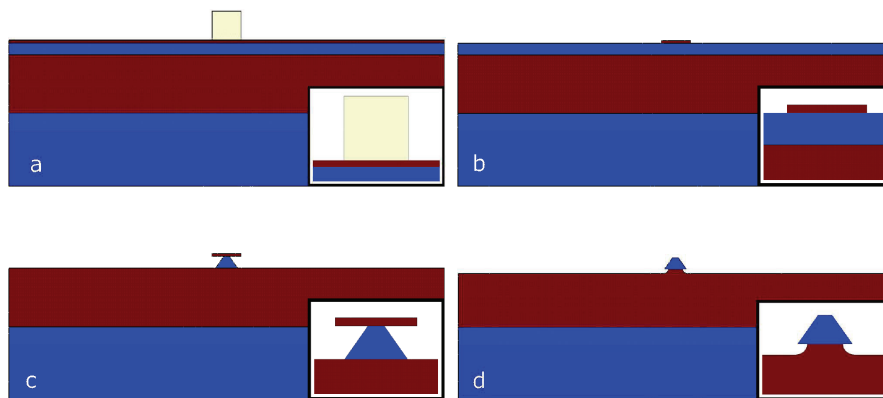


Abbildung 3.5.: Querschnitt im aktiven Bereich (inclusive ein NW) nach bestimmten Schritten: (a) Nanoimprint, (b) Ätzen der Hartmaske, (c) TMAH-Ätzung und (d) Entfernen der Hartmaske mit HF. Die eingebetteten Grafiken zeigen die unmittelbare Umgebung der (200 nm breiten) NW.

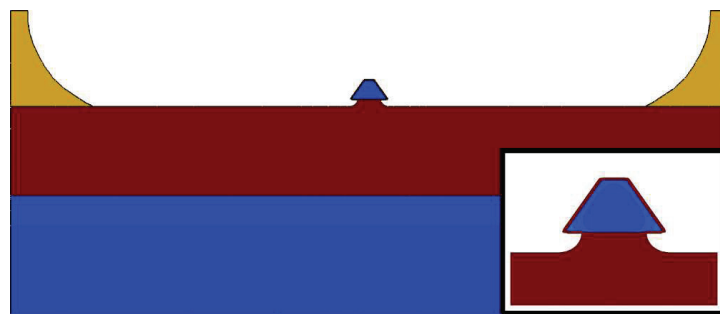


Abbildung 3.6.: Querschnitt des aktiven Bereichs am Ende des Prozesses mit geöffneter Passivierung.

Äquivalent zu den obigen Darstellungen enthalten die Grafiken in Abbildung 3.7

die wichtigsten Zwischenschritte im Bereich der Zuleitungen. Es werden Nanoimprint (a), das Entfernen der Hartmaske (b), das Öffnen der Passivierung (c) und die Metallisierung (d) gezeigt. Auch hier lässt sich erkennen werden, wie das obere Silicium in Schritt (b) unterätzt wird.

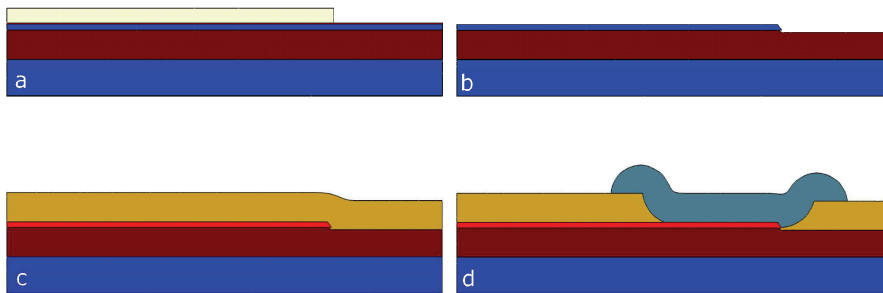


Abbildung 3.7.: Querschnitt im Bereich der Zuleitungen. Der Hauptunterschied besteht in der Implantation mit Bor. Hochdotierte Bereiche sind rot hervorgehoben. Die Bilder zeigen die Struktur nach folgenden Schritten: (a) Nanoimprint, (b) HF-Ätzung, (c) Abscheiden und Öffnen der Passivierung und (d) Aufbringen der Metallisierung.

3.4. Layout der Chips

3.4.1. Hauptvariante

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Layouts erprobt. Zum einen wurde auf ein bewährtes Konzept zurückgegriffen, das aus einem Chip mit 4×4 Transistoren besteht. Zum anderen wurden größere Arrays (16×16 und 32×32 Transistoren) hergestellt, die im nächsten Abschnitt beschrieben werden. Erstere Variante hat für jeden Transistor (in der Folge auch Kanal genannt) eine gesonderte Drain-Zuleitung und eine gemeinsame Source-Zuleitung. Dieses Design wurde zuletzt überarbeitet mit dem Ziel möglichst überall gleich große Zuleitungswiderstände und parasitäre Kapazitäten zu erhalten [73, 74] und in dieser Form unverändert übernommen. Abbildung 3.8 zeigt einen solchen Chip, wobei der innere Bereich mit den Transistoren hervorgehoben ist. Die Transistoren haben in jede Richtung einen Abstand von $200 \mu\text{m}$.

3. Herstellung der Chips

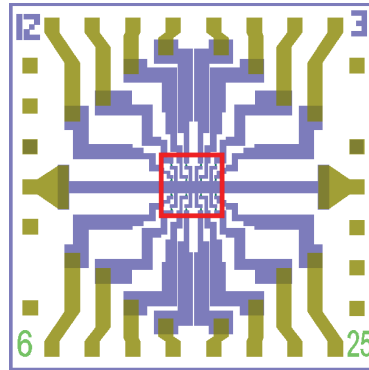


Abbildung 3.8.: Layout eines 4x4-Arrays mit gemeinsamem Source-Balken.

Jeder einzelne aktive Bereich hatte eine Geometrie, wie sie in Abbildung 3.9 dargestellt ist. Die linke Grafik beinhaltet alle relevanten Abmessungen. Dieser ist rechts die fertige Struktur hinsichtlich der Materialien und der Dotierung gegenübergestellt. Die blauen und grünen Bereiche (links) wurden mit dem Nanoimprint hergestellt, während der Lack für die Implantation (schraffiert) und die Öffnung der Passivierung (kariert) per Photolithografie strukturiert wurden. Weil die NWs nicht implantiert werden sollten, wurde aufgrund der Toleranzen bei der Justierung ein Spielraum von $2\mu\text{m}$ auf jeder Seite einkalkuliert. Dies führte dazu, dass der Kanal des Transistors sich streng genommen bis zu den Zuleitungen erstreckt. Da aber die Leitfähigkeit der NW der begrenzende Faktor beim Stromfluss war, dominierten sie das Verhalten der Bauelemente.

Neben dem einzelnen NW aus Abbildung 3.9, wurden auch Transistoren mit sechs parallelen NWs hergestellt. Dies war in erster Linie eine Vorsichtsmaßnahme zu Beginn. Selbst im Fall von Komplikationen beim Nanoimprint oder dem TMAH-Ätzen wurde so die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass zumindest einige funktionsfähige Transistoren übrig blieben. Ferner stellte diese Form der Parallelschaltung einen wirksamen Schutz gegen zu hohes Rauschen dar, weil sich die Stromschwankungen in den einzelnen NWs teilweise ausmitteln. Tabelle 3.5 gibt einen Überblick über die in den Experimenten verwendeten Varianten. Während die Chips des ersten Designs für die Entwicklung der Messelektronik und die Ableitung von HL-1 Zellen (s. Abschnitt 5.2) verwendet wurden, entstanden alle anderen Messungen (s. Kapitel 4 und Abschnitt 5.3) mit denen des zweiten Designs.

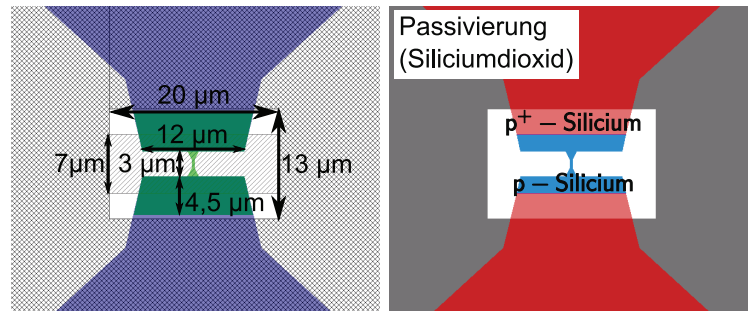


Abbildung 3.9.: Links: Masken und Abmessungen des aktiven Bereichs. (Schraffiert: Implantationsmaske, Kariert: Öffnung der Passivierung. Rechts: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Bereiche im Hinblick auf Material und Dotierung.

Der Vorteil dieses Layouts lag darin, dass es sich mit allen vorhergegangenen Chips am IBN2 gut vergleichen ließ. Allerdings wäre eine höhere Integration wünschenswert, um die Ausbeute an Zellen, die sich direkt auf einem aktiven Bereich befinden, zu erhöhen. Dies konnte mit der nun folgenden Architektur erreicht werden.

3.4.2. Arrays mit gekreuzten Zuleitungen

Für das Layout in Abbildung 3.10 wurden die Zuleitungen für Source und Drain auf zwei Ebenen mit einer isolierenden Zwischenschicht verteilt, so dass sie sich kreuzen konnten. Die waagerechten Leiterbahnen (blau) wurden zusammen mit den NW-Transistoren im Silicium strukturiert, während die senkrechten (gold) beim Lift-Off zusammen mit der übrigen Metallisierung erzeugt wurden. Dazwischen befand sich eine Schicht aus LPCVD-Oxid. Da zu jedem Transistor genau ein Paar von Zuleitungen gehörte, konnte auf diese Weise eine Adressierung erfolgen. Für Details zur leicht abgewandelten Prozessierung in diesem Fall sei auf Vu et al. [75, 76] verwiesen.

Dieses Design zeichnet sich durch den kleineren Abstand von 50 µm oder 100 µm zwischen den Bauelementen und deren hohe Anzahl aus. Prinzipiell wäre eine weitere Erhöhung der Integrationsdichte machbar. Allerdings stehen dem zwei Nachteile gegenüber: Die Leiterbahnen hätten wegen ihrer geringen Breite und großen

3. Herstellung der Chips

Anzahl der NW	Sollbreite [nm]	Istbreite (Mold) [10 ² nm]	Istbreite (NW) [*] [10 ² nm]
<i>Erstes Design</i>			
6	500	4,6	4,6
<i>Zweites Design</i>			
6	500	5,3	5,0 / 3,4
6	375	3,9	3,8 / 2,7
6	250	2,7	2,6 / 1,7
6	150	1,7	1,8 / n.v.
1	250	2,6	n.g. / n.g.

Tabelle 3.5.: Soll- und Istbreiten der Strukturen, sowie Anzahl der NWs pro Transistor. Anmerkungen: (*) Bei den NW wurde die Breite am unteren Ende angegeben. Im zweiten Design wurden Chips von zwei Wafern verwendet, die sich unterschieden. Die entsprechenden Angaben sind durch einen Schrägstrich getrennt. „n.v.“ bedeutet, dass diese Variante am Ende des Prozesses „nicht vorhanden“ war. „n.g.“ bedeutet nicht gemessen“. Zwischen den beiden Designs wurden auch kleinere Veränderungen an den Herstellungsparametern vorgenommen (s. Abschnitt 3.3.2).

Länge einen sehr hohen Widerstand, und an ihren Kreuzungspunkten entstünden parasitäre Kapazitäten durch die es zu Übersprechen kommen könnte. Aufgrund des thermischen Budgets scheidet in dieser Variante außerdem das qualitativ hochwertige LPCVD-Oxid als Passivierung gegenüber dem Elektrolyt aus. Da dieses technologische Problem im Rahmen dieser Arbeit nicht zufriedenstellend gelöst werden konnte, sind diese Chips in den Experimenten nicht verwendet worden. Sie sind aber grundsätzlich funktionsfähig und können daher als Prototyp für künftige Layouts angesehen werden.

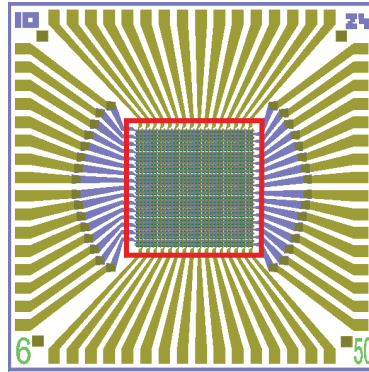


Abbildung 3.10.: Layout eines Arrays aus 32 x 32 Transistoren, die sich über kreuzende Zuleitungen adressieren lassen.

3.5. Bilder der fertigen NW-Transistoren

Die Besonderheiten des gesamten Prozesses lassen sich gut anhand der *rasterelektronenmikroskopische (REM)* Aufnahmen (s. Abbildung 3.11) verdeutlichen. Es handelt sich dabei links um ein Bild eines einzelnen NWs mit 250 nm Sollbreite. Man erkennt den trapezförmigen Querschnitt und die relativ glatte Oberfläche. Außerdem ist gut zu sehen, dass es beim Öffnen der Passivierung vollständig vom Substrat getrennt worden ist. Die horizontale Struktur im Hintergrund ist die Zuleitung, deren Ecke im rechten Bild dargestellt ist. Auch hier erkennt man deutlich die Unterätzung. Anhand dieser Aufnahme lässt sich später abschätzen, welchen Einfluss die Unterätzung auf die Zell-NW-Kopplung hatte. Hierfür sei auf Abschnitt 5.3.7 verwiesen.

3. Herstellung der Chips

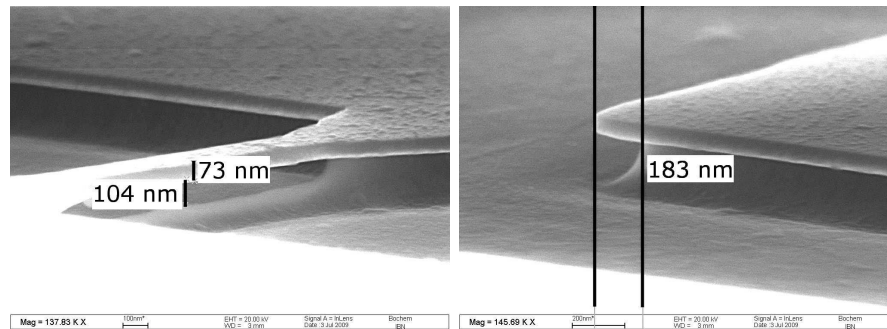


Abbildung 3.11.: Aufnahmen eines fertigen NW-Transistors mit einem Rasterelektronenmikroskop. Links ist das freischwebende NW zu sehen. Rechts lässt sich auch im Bereich der Zuleitung erkennen, dass die obere Siliciumschicht um knapp 200 nm unterätzt ist.

3.6. Diskussion und Zusammenfassung

Es wurde ein Prozess entwickelt, der es ermöglichte, Nanowire-Biosensoren auf reproduzierbare Weise und unter Verzicht auf Elektronenstrahlolithografie herzustellen. Damit wurde eine zeit- und kostengünstige Methode etabliert, um solche Bauelemente in großer Stückzahl zu fertigen. Durch den Einsatz des nasschemischen anisotropen Ätzens mit TMAH gelang es glatte Oberflächen zu erhalten. Aufgrund der Vielzahl von technologischen Neuerungen, die hierfür nötig waren und Hürden, die überwunden werden mussten, konnten nicht alle Optimierungsmöglichkeiten ausgeschöpft werden. Deshalb sollen an dieser Stelle einige Anregungen für weitere Verbesserungen folgen:

- Die deutlichste Einschränkung der Reproduzierbarkeit entstand durch die Schwierigkeit beim Entfernen des Residual-Layers nach dem Nanoimprint. Das Problem entsteht durch die örtliche Variation von dessen Dicke und hängt von der Größe und Dichte der Strukturen ab. Dies sollte sich durch entsprechende Maßnahmen beim Design vermeiden lassen. Beispielsweise würden zusätzliche Vertiefungen ohne elektrische Funktion im Mold zu einer gleichmäßigeren Verteilung des restlichen Lacks führen.
- Die Unterätzung der beim Entfernen der Hartmaske und beim Öffnen der Passivierung führte zu einer Ablösung der NWs vom Substrat / BOX, was

3.6. Diskussion und Zusammenfassung

die mechanische Stabilität verschlechterte. Außerdem entstanden dadurch nanoskopische „Kanäle“, die die Kopplung mit Zellen beeinträchtigten. Diese Nachteile könnten mit einer Hartmaske und einer untersten Passivierungsschicht aus LPCVD-Nitrid vermieden werden. Da dies die Herstellung aufwendiger machen würde, sollte jedoch genau abgewägt werden, ob dies tatsächlich Vorteile verspricht.

- Als Vorsichtsmaßnahme wurde während des Prozesses außer ganz am Anfang auf vollständige RCA-Reinigungen verzichtet. Gaubert et al. [77] und Toita et al. [78] zeigten allerdings, dass die Sauberkeit der Oberfläche vor der Gate-Oxidation einen entscheidenden Einfluss auf das Rauschen hat. In der ersten Studie erwies sich eine Vorbehandlung mit in DI-Wasser gelöstem Ozon gefolgt von einer Ätzung in einer HF-H₂O₂-Lösung unter Einwirkung von Megascall als vorteilhaft [69]. Da dieses Verfahren bei Raumtemperatur durchgeführt werden konnte, ließ es sich sehr gut kontrollieren, was bei der RCA-Reinigung aufgrund der Verdunstung von Chemikalien deutlich schlechter gelang. Darüber hinaus wurden weniger Chemikalien verbraucht, was es zudem kostengünstiger, sicherer und umweltfreundlicher machte. In der zweiten Publikation wurde demonstriert, dass eine Reinigung mit einer NH₄OH-H₂O₂-H₂O-Mischung das 1/f-Rauschen um mehr als eine Größenordnung reduzierte.
- Ein Temperschritt mit Formiergas (5% H₂ in N₂-Atmosphäre) war am IBN nicht üblich, weil in den bisherigen Prozessen kaum ein positiver Effekt festgestellt werden konnte. Er wurde deshalb auch hier nicht durchgeführt. Allerdings wurde dieser Schritt in der Literatur häufig erwähnt. Li et al. zeigten, dass das Rauschen bei NW-Transistoren mit HfO₂ als Gate-Dielektrikum um knapp eine Größenordnung verringert wurde [79]. Für SiO₂ fehlten solche Studien, so dass der mögliche Nutzen nicht schlüssig beurteilt werden konnte. Aufgrund der besonderen Wichtigkeit der Oberfläche von NW-Transistoren sollte dies in der Zukunft noch untersucht werden.

4. Elektrische Charakterisierung

Der Ursprung dieser Limitation [durch das Rauschen] ist die Existenz in Zeit und Raum selbst.

(P. Handel, rumänischer Physiker, in einem Vortrag über Quantenrauschen am IBN2)

4.1. Einleitung

Obwohl es bereits einige Veröffentlichungen über Nanowire-Transistoren gibt, kann aus diesen nicht unmittelbar auf das Verhalten der in dieser Arbeit beschriebenen Transistoren geschlossen werden. Denn der Einfluss der Herstellungsmethoden und -parameter auf die Eigenschaften nanostrukturierter Bauelemente steigt mit zunehmender Miniaturisierung.

Aus diesem Grund wurden die Bauelemente zunächst ausführlich elektrisch charakterisiert. Allerdings ergab sich dabei genau wegen der angesprochenen Empfindlichkeit gegenüber den Prozessparametern eine Schwierigkeit: Einerseits wurden die Erkenntnisse aus den Messungen dazu verwendet Verbesserungsansätze zu identifizieren. Andererseits ergab sich daher eine Vielzahl von Varianten, so dass kein Chip existiert, an dem alle Aspekte verdeutlicht werden könnten. Es handelt sich im Folgenden um eine Auswahl von typischen Messungen anhand derer alle wesentlichen Eigenschaften demonstriert werden. Sie können als repräsentativ angesehen werden. Zunächst soll nun der Messaufbau beschrieben werden, der in diesen Untersuchungen verwendet wurde. Danach folgen die Ergebnisse und schließlich die Diskussion mit einer Zusammenfassung.

4.2. Messanordnung

4.2.1. Experimentelle Situation und Methodik

Ziel der Charakterisierung war es, Aufschluss über die zu erwartenden Eigenschaften der Transistoren in Experimenten mit Zellen zu geben. Deshalb wurden alle Messungen, außer einigen für die Prozesskontrolle und die Elektronikentwicklung, die hier nicht gezeigt werden, grundsätzlich in einer physiologischen Salzlösung durchgeführt, wie sie normalerweise bei Patch-Clamp-Versuchen mit Neuronen oder HEK-Zellen (s. Abschnitt 5.3.3) verwendet wird. Die Zusammensetzung kann Tabelle C.5 entnommen werden. Abbildung 4.1 illustriert einen NW-Transistor, der sich im Elektrolyt befindet, mit allen Kontakten.

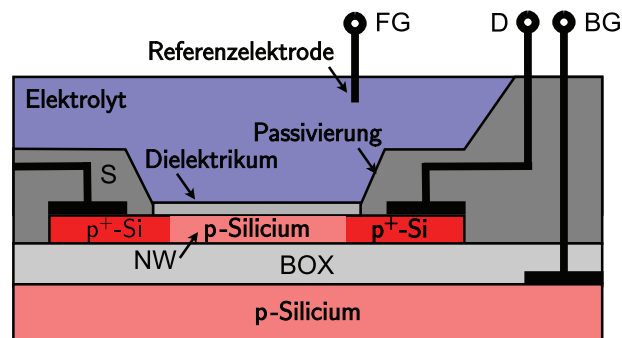


Abbildung 4.1.: NW-EISFET in SOI-Technologie. Die Abbildung zeigt einen Längsschnitt durch einen NW-Transistor im Elektrolyt mit Passivierung und allen Kontakten. S, D, FG und BG bezeichnen Source beziehungsweise Drain, Front Gate und Back Gate.

Die SOI-Technologie ermöglicht einen Transistor mit zwei Gate-Kontakten. Zum einen kann über die Referenzelektrode das Oberflächenpotential der Nanowires (engl. *front gate*) verändert werden. Zum anderen, man spricht in diesem Fall auch von einem *Pseudo-Transistor*, kann der Strom von der Rückseite (engl. *back gate*) über das BOX moduliert werden. In der Literatur wurde gezeigt, dass so die Empfindlichkeit gegenüber Änderungen des Oberflächenpotentials gesteigert werden kann [80, 81]. Aufgrund der fast vollständigen Unterätzung der NWs (s. Abbildung 3.11) konnte dieser Effekt jedoch hier nicht ausgenutzt werden.

Daher wurden vor allem der Einfluss der Geometrie (Breite der Drähte) und des Front Gates untersucht. Während normalerweise Ag-AgCl-Drähte als Referenzelektrode verwendet werden, wurde für die Charakterisierung eine DRI-REF-Elektrode von WORLD PRECISION INSTRUMENTS verwendet, um Rauschen und Drift gering zu halten. Aufgrund elektrochemischer Effekte an allen Grenzflächen ist das Oberflächenpotential der NWs, das eigentliche Gate-Potential, nicht identisch mit dem Elektrodenpotential. Da es experimentell nicht zugänglich ist und unter gleichbleibenden Bedingungen gearbeitet wurde, wird im Weiteren der Einfachheit halber die Spannung zwischen Referenzelektrode und Source-Kontakt als V_{GS} bezeichnet.

4.2.2. Messbox mit 16 Kanälen

Für die Messungen wurde eine bereits existierende Messelektronik [82, 83] für den Betrieb mit NW-Transistoren umgerüstet. Sie verfügte über 16 voneinander getrennte Kanäle, die ihrerseits aus jeweils einem Impedanzwandler und einer zweiten Verstärkerstufe bestanden. So war es möglich, parallel alle Transistoren zu vermessen oder die Ausbreitung von Aktionspotentialen über einen Chip zu beobachten (s. Abschnitt 5.2).

Für den Impedanzwandler wurden der rauscharme Operationsverstärker OP97 von ANALOG DEVICES [84] und ein $250\text{ k}\Omega$ Rückkoppelwiderstand (1 % Toleranz) verwendet, so dass der dynamische Bereich des OPs voll ausgeschöpft wurde. Um die kleinen Änderungen des Drain-Stroms mit einer Datenerfassungskarte (PCI-6071E von NATIONAL INSTRUMENTS) aufzulösen, war es erforderlich, den kompletten Messbereich ($\pm 10\text{ V}$) auszunutzen. Hierzu diente eine zweite Verstärkerstufe, auch basierend auf dem OP97, die einerseits den Gleichanteil im Arbeitspunkt kompensierte und nur das Kleinsignal verstärkte. Der (umschaltbare) Verstärkungsfaktor dieser zweiten Stufe betrug immer 100. Für weitere Details zum Aufbau und den verwendeten Bauelementen sei auf Anhang B verwiesen.

Um die Vielzahl der möglichen Parameter automatisch zu erfassen, wurden mehrere Programme mit LABVIEW (NATIONAL INSTRUMENTS) erstellt. Sie ermöglichten die folgenden Messungen:

- Erfassen von Ausgangskennlinien (I_D gegen V_{DS} bei konstanter V_{GS})
- Erfassen von Transferkennlinien (I_D gegen V_{GS} bei konstanter V_{DS})

4. Elektrische Charakterisierung

- Aufzeichnen von Zeitverläufen (I_D gegen t mit bis zu 78 kHz Abtastrate pro Kanal)
- kombinierte Messung von Transferkennlinie und Rauschen (s. Anhang B)

Während die ersten drei Punkte keiner weiteren Erklärung bedürfen, muss das Verfahren bei den Rauschmessungen näher erläutert werden. Das Rauschen wurde in jedem Arbeitspunkt aus dem zeitlichen Verlauf des Stroms ermittelt (im Gegensatz zu einer direkten Messung des Spektrums). Da die anfallende Datenmenge es unmöglich machte die Sequenzen für eine große Anzahl von Transistoren komplett zu speichern, wurde ein Teil der Auswertung bereits in die Messsoftware verlagert. Ziel war es, für jeden Chip herauszufinden, wie das Signal-Rausch-Verhältnis vom Arbeitspunkt abhängt. Daher wurden V_{DS} oder V_{GS} in kleinen Schritten (25 bis 50 mV) variiert. Für jede Kombination wurde zunächst I_D bestimmt, eine Kompensation des Gleichanteils durchgeführt, und schließlich der Wechsel(= Rausch)-anteil für eine Sekunde mit 10 kHz abgetastet. Von jedem dieser Zeitverläufe wurden die *Standardabweichung* (engl. *root mean square*, *rms*), sowie das Maximum und das Minimum des Drain-Stroms gespeichert. Um die Aussagekraft dieser Messungen zu erhöhen wurden sie in der Regel mehrere Male wiederholt.

Mit der Standardabweichung wurde zwar der Effektivwert der Stromschwankung, nicht aber deren spektrale Zusammensetzung erfasst (s. Abschnitt 2.3). Deshalb gingen in die Messungen zusätzlich zum Rauschen auch sämtliche anderen Störungen, wie beispielsweise Einkopplungen vom Netzteil ein. Diese wurden zum einen durch einen Faradaykäfig gering gehalten. Außerdem wurde das Eigenrauschen der Messbox bestimmt, so dass es in die Auswertung mit einbezogen werden konnte.

4.3. Ergebnisse der Charakterisierung

4.3.1. Kennlinien

Ausgangskennlinien

Abbildung 4.2 zeigt die Ausgangskennlinien eines Transistors mit einem einzelnen Nanodraht von 250 nm Breite, wie er in den Kopplungsexperimenten (s. Abschnitt 5.3) hauptsächlich verwendet wurde. Dabei wird V_{GS} von blau (0 V) bis anthrazit (-3 V) in Schritten von -0,5 V variiert. Man kann erkennen, dass der

4.3. Ergebnisse der Charakterisierung

Strom im Sättigungsbereich, beispielsweise von $V_{DS} = -2\text{ V}$ bis -3 V bei der hellblauen Kennlinie ($V_{GS} = -1,5\text{ V}$), kaum noch ansteigt. Das bedeutet, es handelt sich hierbei um Langkanaltransistoren, bei denen die Kanallängenmodulation (s. Abschnitt 2.2.1) keine große Rolle spielt. Ferner fließt kein Strom, wenn $V_{GS} = 0\text{ V}$ ist. Das Gleiche kann auch beobachtet werden (ohne Abbildung), wenn der Transistor sich nicht im Elektrolyt befindet, das heißt elektrochemische Potentiale nicht vorhanden sind. Dies entspricht nicht dem zunächst erwarteten Verhalten. Da Zuleitung und Kanal vom gleichen Dotierungstyp sind, müsste es sich um einen Transistor vom Verarmungstyp handeln, der auch ohne das Anlegen einer Gate-Spannung Strom leitet. Da sichergestellt werden konnte, dass Ohm'sche Kontakte zwischen der Metallisierung und den hochdotierten Zuleitungen vorliegen, muss es sich um einen Effekt der festen Ladungen im Gate-Dielektrikum handeln. Diese sind im Fall von SiO_2 positiv [35] und führen dazu, dass die Löcher durch elektrostatische Abstoßung aus dem Kanal verdrängt werden [85].

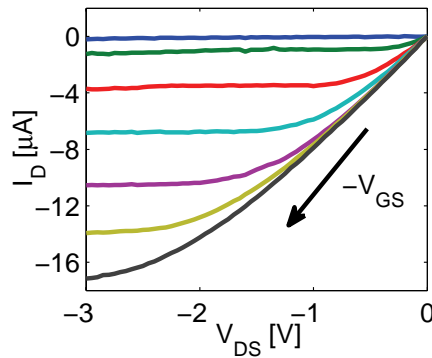


Abbildung 4.2.: Ausgangskennlinien eines selbstsperrenden Transistors mit einem 250 nm breiten und $3\text{ }\mu\text{m}$ langen NW. V_{GS} nimmt von oben (0 V) nach unten (-3 V) in Schritten von $-0,5\text{ V}$ ab.

Transferkennlinien und Transkonduktanz

Der selbe Transistor wurde auch bezüglich seines Verstärkungsverhaltens untersucht. In Abbildung 4.3 sind die entsprechenden Kennlinien zu sehen, wobei das linke Bild den Strom I_D in Abhängigkeit von V_{GS} zeigt, und in der rechten Grafik

4. Elektrische Charakterisierung

die Transkonduktanz g_m dargestellt ist. Die Drain-Spannung V_{DS} wurde jeweils von 0 V (blau) bis -2 V (lila) in Schritten von -0,5 V variiert. Man erkennt in der Stromkennlinie, dass auch hier erst ab einer Gate-Spannung $V_{GS} < -0,5$ V ein nennenswerter Strom fließt. Diese Schwellspannung lag bei allen Proben im Bereich von $-0,5 \text{ V} < V_{th} < 0 \text{ V}$. Darüber hinaus kann bei der dunkelblauen Kennlinie ($V_{DS} = 0 \text{ V}$) im linken Teil, bei negativen Spannungen, ein kleiner positiver Strom beobachtet werden. Die Herkunft dieses Stromes konnte nicht eindeutig geklärt werden. Es ist aber wahrscheinlich, dass es sich dabei um Leckströme durch das Gate-Oxid handelt. Deshalb wurden beim Dauerbetrieb der Transistoren keine Spannungen kleiner, als -1,5 V verwendet.

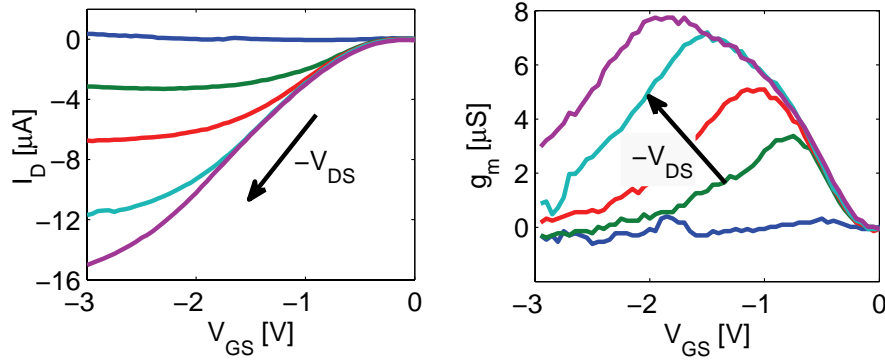


Abbildung 4.3.: Transferkennlinien (links) und Transkonduktanz (rechts) eines NW-Transistors mit einem 250 nm, breiten NW. V_{DS} nimmt jeweils von oben (0 V) nach unten (-2 V) in Schritten von -0,5 V ab.

Abgesehen von diesen Besonderheiten sind die Kennlinien qualitativ denen von herkömmlichen EISFETs sehr ähnlich, auch wenn die Werte von g_m relativ zu den gemessenen Strömen höher sind. Das Verhältnis g_m/I_D beträgt hier bei der maximalen Transkonduktanz ungefähr $0,7 \text{ V}^{-1}$ im Gegensatz zu $0,1 \text{ V}^{-1}$ bei planaren Transistoren [38, 73]. Die Kontrolle des Stroms über das Gate ist demnach effektiver. Dafür spricht auch eine von unserer Gruppe bereits veröffentlichte Untersuchung der *Subthreshold Slope* [76]. Ein kleiner Wert bedeutet eine gute Qualität des Gate-Dielektrikums und eine hohe Empfindlichkeit des Sensors. Für die NWs wurden dort Werte bis zu 85 mV/Dekade gezeigt, während planare Transistoren häufig Werte von über 100 mV/Dekade aufweisen.

Parasitäre Effekte der Zuleitungen und Reproduzierbarkeit der Charakteristika

In einer Vorarbeit wurden die Zuleitungen auf den Chips so entworfen, dass sich für alle 16 Kanäle sowohl nahezu identische Zuleitungswiderstände, als auch -kapazitäten ergaben [73, 74]. Da die Leiterbahnen bei den NW-Chips sehr dünn waren, machten sich aber selbst kleine Unterschiede noch deutlich bemerkbar. Aufgrund der zweifachen Achsensymmetrie des Layouts existieren auf jedem Chip vier mal vier identische Kanäle, wie in Grafik 4.4 oben durch die farbliche Markierung hervorgehoben. Die Transferkennlinien in dieser Abbildung unten stammen alle von demselben Chip (sechs dotierte NWs, 500nm Breite). Links sind sie komplett und ohne Symbole zu sehen, um eine klare Darstellung zu erhalten. Dennoch verschwimmen die 16 Kennlinien zu drei breiten (rot, grün und blau) und zwei etwas dünneren (violett) Kurven. Erst in der Vergrößerung im rechten Teil der Abbildung erkennt man weitere Details. Die Abweichung innerhalb einer Farbgruppe sind jeweils weniger als 6 %. Allerdings unterscheiden sich die Gruppen um bis zu 30 %. Dabei weisen die Kanäle mit den kürzeren Zuleitungen (rot und blau) erwartungsgemäß einen höheren Strom auf.

Es existieren aber auch Unterschiede im Kurvenverlauf. Dies lässt sich durch die gemeinsame Zuleitung für die Source-Kontakte erklären: Aufgrund des Stromflusses fällt darüber eine Spannung ab, die die effektive Gate-Spannung reduziert. Je weiter in der Mitte ein Kanal mit dem „Source-Balken“ verbunden ist, desto größer ist diese Abweichung. Falls dies der einzige Grund für den Unterschied ist, sollte es möglich sein, die Kennlinien unterschiedlicher Farbe miteinander zur Deckung zu bringen, indem man sie gegen eine effektive Gate-Spannung $V_{GS,effektiv}$ aufträgt und skaliert. Nach dem *Überlagerungssatz* für lineare Systeme können alle individuellen Spannungsabfälle durch die einzelnen Transistorströme summiert und von V_{GS} abgezogen werden. Man erhält für einen beliebigen Kanal j dann folgenden Ausdruck:

$$V_{GS,effektiv,j} = V_{GS,j} - \sum_i R_{Source,i} \cdot I_{D,i} \quad (4.1)$$

Der Index i in dieser Formel steht für alle Kanäle (inklusive Kanal j), die zu einem relevanten Spannungsabfall führen. Aufgrund der Symmetrie sind das immer die Kanäle der linken bzw. rechten Chiphälfte. Die Widerstände $R_{Source,i}$ können

4. Elektrische Charakterisierung

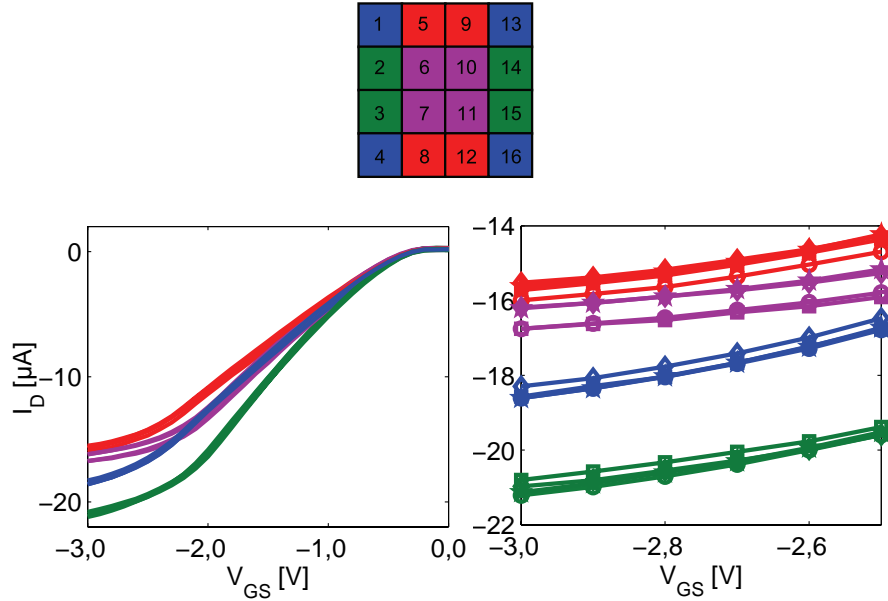


Abbildung 4.4.: Variation der Transferkennlinien eines Chips mit sechs 500 nm breiten NWs. Oben sind die symmetrischen Kanäle farblich gekennzeichnet. Unten befinden sich die entsprechenden Kennlinien im Überblick (links) und als Vergrößerung (rechts).

aus dem Layout und dem Ergebnis einer Widerstandsmessung des Source-Balkens berechnet werden. Dabei wird für alle $i \neq j$ nur der Teil berücksichtigt, durch den $I_{D,i}$ und $I_{D,j}$ fließen, da nur der Spannungsabfall dort zu einer Veränderung von V_{GS} beiträgt.

Eine solche Berechnung wurde für obigen Chip durchgeführt. Das Ergebnis nach der Normierung ist in Abbildung 4.5 für die Kanäle aus dem linken oberen Quadranten dargestellt. Die Kurven sind nahezu identisch. Ihre maximale relative Abweichung voneinander beträgt 9 %. Folglich haben die Transistoren selbst grundsätzlich die gleichen Eigenschaften. Allerdings spielen die Zuleitungen eine erhebliche Rolle. Strebt man Messungen an, bei denen einzelne Kanäle miteinander verglichen werden sollen, ist dies nur mit erheblichem Aufwand möglich. Eine einfachere Verbesserung, die bei der quantitativen Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung im nächsten Kapitel (s. Abschnitt 5.3) angewendet wurde, besteht darin, jeweils

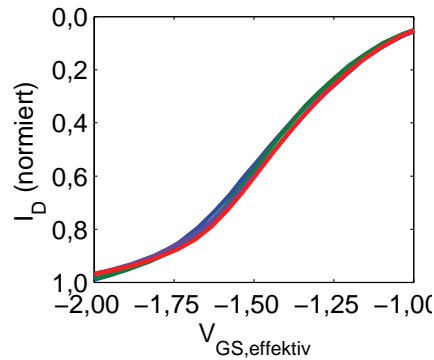


Abbildung 4.5.: Beseitigung der Variationen auf einem Chip durch Skalieren und Berücksichtigung der Spannung, die über der Source-Zuleitung abfällt.

nur einen Kanal zu betreiben, so dass der Gesamtstrom und der damit verbundene Spannungsabfall über den Source-Balken geringer ist.

Diskussion

Anhand obiger Ergebnisse wird deutlich, dass die NW-Transistoren reproduzierbare Charakteristika aufweisen und die Intra-Chip-Variation gering ist, so dass ein quantitativer Vergleich von Messungen mit einem Chip möglich ist, sofern der Einfluss der Zuleitungswiderstände berücksichtigt wird. Dies könnte dadurch erleichtert werden, dass die Metallisierung bei der Produktion in Zukunft näher an die Transistoren herangeführt wird. Damit ließe sich die ohnehin schon gute Kontrolle des Drain-Stroms über das Gate weiter verbessern. Darüber hinaus weisen die Kennlinien alle Eigenschaften klassischer Langkanaltransistoren auf. Deshalb können die NW-Transistoren in allen Modellen als solche beschrieben werden, wenn die Parameter entsprechend angepasst werden. Schließlich sei darauf hingewiesen, dass das dynamische Verhalten hier nicht untersucht wurde. Da es vor allem für die Kopplungsexperimente von Bedeutung ist, für die eine andere Messschaltung verwendet wurde, findet eine Beschreibung in diesem Kontext (s. Abschnitt 5.3.4) statt.

4.3.2. Rauschen und Stabilität

Leistungsdichtespektrum

Das Leistungsdichtespektrum ist eine Darstellungsform, die es erleichtert, die unterschiedlichen Typen des Rauschens zu identifizieren (s. Abschnitt 2.3.2). Abbildung 4.6 zeigt ein solches Spektrum für NW-Transistoren mit 500 nm Sollbreite. Man erkennt für Frequenzen bis 100 Hz einen Abfall der Leistungsdichte proportional zu $1/f^{1,6}$ (gestrichelte, violette Linie). Im Bereich von 100 Hz bis 10 kHz (durchgezogene, violette Linie) fällt das Spektrum dann mit $1/f$ ab und mündet bei höheren Frequenzen in einen (nahezu) frequenzunabhängigen Wert.

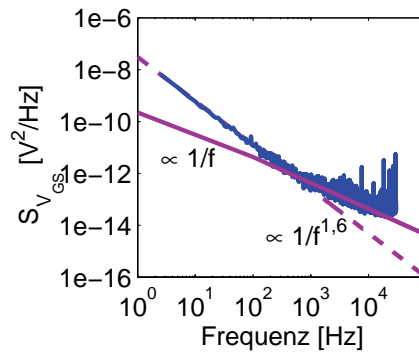


Abbildung 4.6.: Leistungsdichtespektrum des Rauschens bei einem NW-Transistor mit sechs 500 nm breiten NWs inklusive des Verstärkerrauschens. Es wurde aus einer zehnstündigen Messung durch Fouriertransformation der Autokorrelationsfunktion berechnet. Die beiden Fits (violett) verdeutlichen die unterschiedliche Frequenzabhängigkeit bei niedrigen und mittleren Frequenzen.

Ein solches Spektrum entspricht grundsätzlich dem bekannten Verlauf von ISFETs [86,87]: Anteile, die sich proportional zu $1/f^\alpha$ verhalten, werden hierzufolge Generations-Rekombinations-Vorgängen zugeordnet, wenn $0,8 < \alpha < 1,2$ ist. Dies ist hier bei den mittleren Frequenzen der Fall. Ein steilerer Abfall kann mit Drift-Vorgängen an der Referenzelektrode oder der Grenzfläche zwischen Elektrolyt und Gate-Dielektrikum in Verbindung gebracht werden [86]. Bei kommerziellen ISFETs macht sich dies bis zu Frequenzen von nur etwa 1 Hz bemerkbar. Die Tatsache, dass

dieser Bereich bei den NW-FETs bis etwa 100 Hz geht, deutet auf eine hohe Drift hin, die bei SiO₂ Dielektrika häufig beobachtet wird [40, 41, 88]. Der konstante Anteil über 10 kHz schließlich stammt vom Verstärker, was mit Referenzmessungen übereinstimmt.

Arbeitspunktabhängigkeit von Rauschen und Drift

Die Kenntnis der Arbeitspunktabhängigkeit von Rauschen und Drift ist entscheidend, für den Betrieb der Sensoren bei einem optimalen Signal-Rausch-Verhältnis. Der Effektivwert des Rauschens wurde wiederholt für verschiedene Kombinationen von V_{DS} und V_{GS} gemessen. Eine Veränderung von V_{DS} führte zu keiner Verbesserung (ohne Abbildung). Daher wird hier nur die Abhängigkeit von der Gate-Spannung mit einer Schrittweite von 25 mV bei fester Source-Spannung ($V_{DS} = -1,5$ V) beschrieben. Der Verlauf der Kurve in Abbildung 4.7 links zeigt, dass das Rauschen für kleinere Werte von $V_{GS} - V_{th}$ bis etwa -1,5 V moderat zunimmt. Bei einigen Chips kann an dieser Stelle auch ein lokales Minimum beobachtet werden. Erst bei Werten von $V_{GS} - V_{th} < -1,5$ V steigt das Rauschen deutlich an. Dort beginnt der lineare Bereich, für den auch die Theorie ein höheres Rauschen vorher sagt [77]. Außerdem könnten elektrochemische Effekte an der Referenzelektrode in Zusammenhang mit Leckströmen eine Rolle spielen [86]. Dies ist einer der Gründe, warum die Gate-Source-Spannung klein gehalten werden sollte.

Im rechten Teil der Abbildung 4.7 ist die Drift dargestellt. Man erkennt einen äquivalenten Verlauf zur linken Kurve. Da die Drift nach jedem Umschalten des Arbeitspunktes kurze Zeit höher war und dann sättigte kann ihr Beitrag zum $V_{GS,rms}$ mit einem linearen Verlauf nach oben abgeschätzt werden [86]. Durch Integration über die Messzeit von einer Sekunde erhält man für $\Delta V_{GS,Drift} = 0,5$ mV einen Effektivwert von 144 mV. Dieser Wert ist größer, als der gesamte Effektivwert des Rauschens, und kann daher nur einen Anhaltspunkt für den Anteil der Drift liefern. Trotzdem muss davon ausgegangen werden, dass dieser erheblich ist, wie im vorhergegangenen Abschnitt aus dem Leistungsdichtespektrum abgeleitet wurde.

Die Arbeitspunktabhängigkeit des 1/f-Rauschens kann mit verschiedenen Modellen beschrieben werden [43, 47, 77], die auch den Arbeitsbereich des Transistors (Sub-Threshold, linearer Bereich bzw. Sättigung) berücksichtigen. Die hier gezeigten Messungen wurden alle im Sättigungsbereich und im Übergang zum linearen durchgeführt. Für die Identifikation des passenden Modells wird ausschließlich die

4. Elektrische Charakterisierung

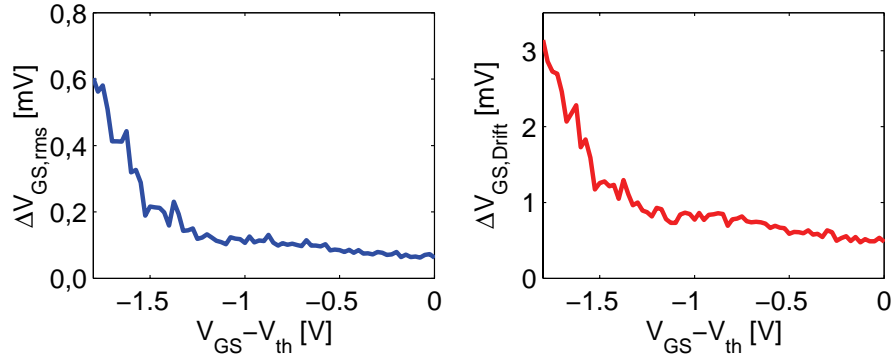


Abbildung 4.7.: Effektivwert des Gesamtrauschens eines NW-Transistors mit sechs 500 nm breiten NWs (links) und Einfluss der Drift bezogen auf die Gate-Spannung bei einer Messzeit von einer Sekunde jeweils in Abhängigkeit von $V_{GS} - V_{th}$.

„reine“ Sättigung betrachtet, die durch eine quadratische Abhängigkeit des Stroms I_D von V_{GS} gekennzeichnet ist. Die NW-FETs haben einen solchen Verlauf im Bereich von $-0,4 \text{ V} < V_{GS} - V_{th} < 0 \text{ V}$, wie sich anhand eines Parabelfits nachweisen ließ.

Die blaue Kurve in Abbildung 4.8 zeigt die Rauschleistung $I_{D,rms}^2$ ohne den Beitrag des Verstärkers und der Drift bei $V_{GS} - V_{th} = 0 \text{ V}$, die vorher abgezogen wurden. Somit ist in der Kurve primär der $1/f$ -Anteil berücksichtigt. Daneben sind zwei mit der *Methode der kleinsten Quadrate* gefittete Kurven in violett dargestellt. Die durchgezogene Linie ist proportional zu $(V_{GS} - V_{th})^2$ und entspricht dem McWorther-Modell. Dagegen ist die gestrichelte Linie proportional zu $(V_{GS} - V_{th})^3$, was dem Hooge-Modell entspricht [47, 77]. Man sieht, dass erstere den Verlauf der Messung erheblich besser nachbildet. Dieser Fit weist einen um einen Faktor 19 kleineren mittleren quadratischen Fehler auf. Damit ist das McWorther-Modell deutlich besser zur Beschreibung der NW-Transistoren geeignet.

Abhängigkeit des Rauschens von der Breite der NWs

Für den Sättigungsbereich ergibt sich aus dem McWorther-Modell, dass $V_{GS,rms}^2$ direkt proportional zum Kehrwert der Kanalbreite ist [47, 77]. Diese Abhängigkeit

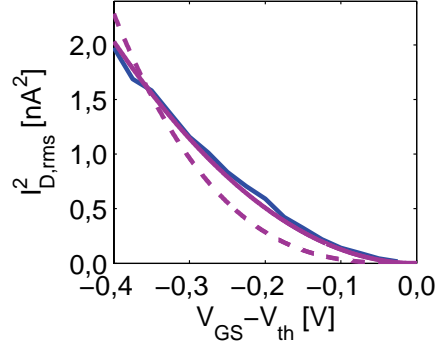


Abbildung 4.8.: Abhängigkeit des Rauschens von V_{GS} für $V_{DS} = -1,5$ V. Die gefitteten Kurven (violett) entsprechen dem McWorther- (durchgezogene Linie) beziehungsweise dem Hooge-Modell (gestrichelt).

wurde auch bei den NWs beobachtet. In Abbildung 4.9 ist links das Rauschen von Nanowires unterschiedlicher Breite dargestellt (blau 375 nm, grün 250 nm und 150 nm). Der rechte Teil der Abbildung zeigt für die links mit Symbolen gekennzeichneten Arbeitspunkte den Zusammenhang von $V_{GS,rms}^2$ und $1/\text{Breite}$. Jedes Tripel liegt in Übereinstimmung mit der Theorie nahezu exakt auf einer gefitteten Geraden (violette Kurven). Allerdings sollten sich alle Kurven im Ursprung treffen. Statt dessen wächst der Abszissenabschnitt außer bei der Kurve für $V_{GS} - V_{th} = -0,3$ V (Kreise) mit zunehmendem $V_{GS} - V_{th}$. Dies ist auf das stromabhängige Rauschen des Verstärkers und das Schrotrauschen zurückzuführen.

Stabilität bei Dauermessungen

Da bei der Variation der Gate-Source-Spannung V_{GS} der Strom I_D in jedem Arbeitspunkt für eine Sekunde gemessen wurde und mehrere solcher Messungen nacheinander durchgeführt wurden, um die statistische Aussagekraft zu erhöhen, resultierte daraus eine Gesamtmesszeit von bis zu 30 Minuten pro Chip. Ein Vergleich aller Kennlinien (ohne Abbildung), die innerhalb dieser Zeit aufgenommen wurden, zeigte weder in den Transferkennlinien, noch beim Rauschen, signifikante Veränderungen. Abgesehen von der Drift ist ein stabiler Betrieb der Sensoren über diesen Zeitraum problemlos möglich, so dass sich die Nanowire-Transistoren auch

4. Elektrische Charakterisierung

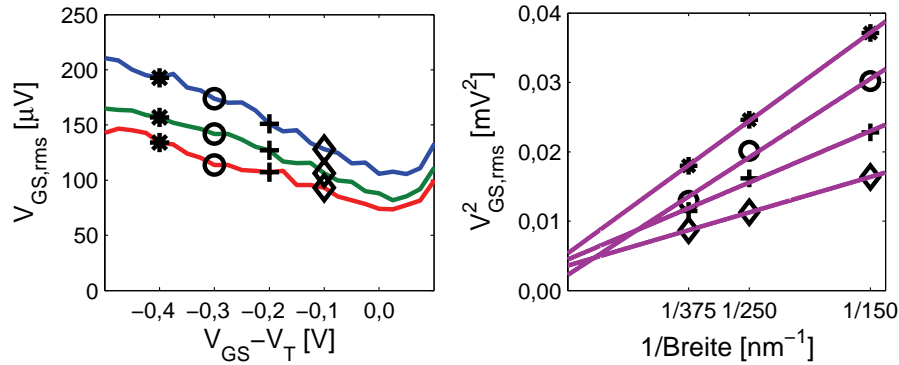


Abbildung 4.9.: Abhängigkeit des Rauschens von der Breite der NWs. Die Symbole kennzeichnen die unterschiedlichen Arbeitspunkte (links), für die jeweils ein Fit (rechts) durchgeführt wurde.

für längere Messungen eignen.

Einfluss von Oberflächenaktivierung und Proteinbeschichtung

Aufgrund der Empfindlichkeit der NWs gegenüber Ultraschall und Chemikalien musste das Reinigungs- und Beschichtungsprotokoll für die Kultivierung von Zellen angepasst werden. In diesem Zusammenhang ist die Oberflächenaktivierung der Chips ein wichtiger Aspekt, denn sie basiert auf der Erzeugung von Oberflächenladungen und kann die Eigenschaften der NWs als Sensor beeinträchtigen. Üblich sind eine Oberflächenaktivierung mit Sauerstoff-Plasma oder Schwefelsäure.

In Abbildung 4.10 sind Transfercharakteristik (links) und Rauschen (rechts) eines Chips illustriert. Die Kurven zeigen das Verhalten vor der Behandlung (blau), nach der Plasmaaktivierung (rot) und nach der Poly-L-Lysin(PLL)-Beschichtung (grün). Die Parameter der Plasmabehandlung sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst. Man erkennt in der linken Grafik, dass sich die Schwellspannung V_{th} durch beide Schritte kaum verändert. Allerdings wird die Steigung der Kurve insbesondere durch die Plasmabehandlung deutlich geringer, was eine verringerte Empfindlichkeit bedeutet. Ein solcher Effekt kann auf die Erzeugung langsamer Störstellen im Gate-Oxid zurückgeführt werden [35]. Als Folge nimmt auch das Rauschen stark zu (s. Abbildung 4.10 rechts), so dass dieses Verfahren ungeeignet ist.

4.3. Ergebnisse der Charakterisierung

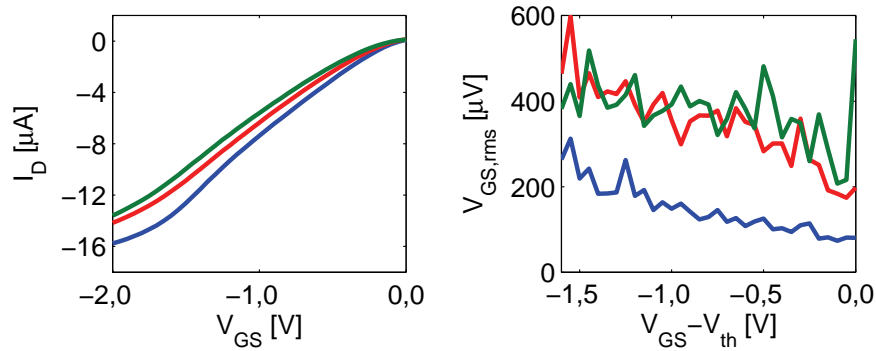


Abbildung 4.10.: Einfluss von Plasmaaktivierung und PLL-Beschichtung auf Transfercharakteristik (links) und Rauschen (rechts).

Gas	Gasfluss	Druck	Leistung	Prozessdauer
O ₂	>400 cm ³	0,6 mbar	ca. 20 W	5 min

Tabelle 4.1.: Parameter der Plasmaaktivierung. Es wurde ein Reaktor vom Typ PiCO von DIENER ELECTRONIC GMBH & CO. KG, Nagold, Deutschland verwendet.

Bei einer Aktivierung mit 20%-iger Schwefelsäure (80 °C, 20 Minuten) tritt hingegen eine Verschiebung der Transfercharakteristik auf. Das heißt, die Schwellenspannung V_{th} wandert zu negativeren Werten, wie die Kurven in Abbildung 4.11 links zeigen. Der Verlauf vor der Oberflächenaktivierung ist wieder blau dargestellt, derjenige danach rot. Die Änderung von V_{th} ist auf die oxidierende Wirkung der Schwefelsäure zurückzuführen, die in der Oxidschicht die Anzahl Silicium-Atome mit positiver Partialladung erhöht. Der Einfluss auf das Rauschen hingegen ist nicht eindeutig, wie in Abbildung 4.11 rechts zu sehen ist. Da es in einigen Bereichen im Vergleich zum unbehandelten Chip höher liegt, wurde auch von dieser Aktivierungsmethode Abstand genommen.

Schließlich wurde eine Beschichtung mit Gelatine-Fibronectin (siehe Anhang C.4.1) erprobt, das ohne Oberflächenaktivierung gut auf Siliciumdioxid-Oberflächen haftet. Abbildung 4.12 zeigt das Ergebnis der Untersuchung der Transistoren vor (blau) und nach der Beschichtung (rot). Da sich weder auf die Kenn-

4. Elektrische Charakterisierung

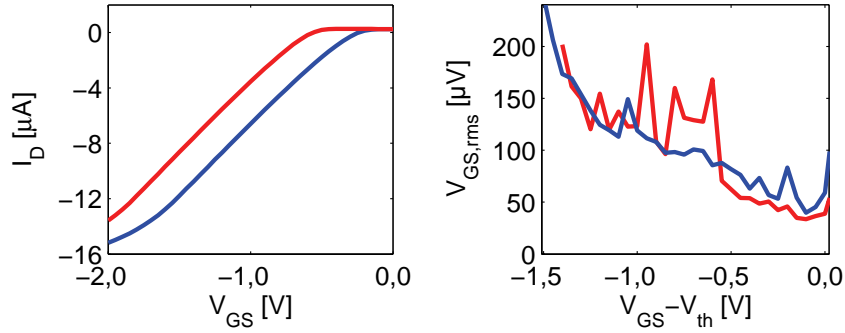


Abbildung 4.11.: Einfluss von Schwefelsäureaktivierung auf Transfercharakteristik (links) und Rauschen (rechts).

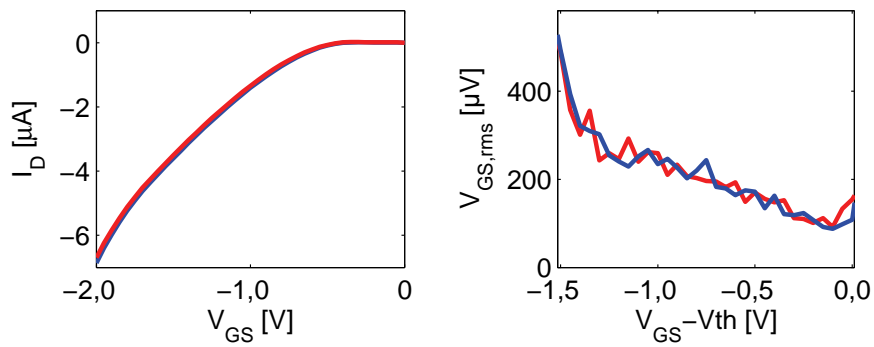


Abbildung 4.12.: Einfluss von Gelatine-Fibronectin-Beschichtung auf Transfercharakteristik (links) und Rauschen (rechts).

linie noch auf das Rauschen negative Effekte erkennen ließen, wurde dies die Methode der Wahl bei den Messungen mit Zellen.

Diskussion

Es wurde aus einer praktischen Perspektive untersucht, wie sich die NW-Transistoren bezüglich Rauschen und Drift verhalten. Deshalb wurde meistens nur der Effektivwert der Schwankungsgrößen bestimmt, der keinerlei Informationen über die Mechanismen enthält. Dennoch lassen diese sich aus der Untersuchung

4.3. Ergebnisse der Charakterisierung

von Arbeitspunktabhängigkeit und Skalierung ableiten. Im Folgenden wird gezeigt, dass die quantitative Analyse ein konsistentes Bild ergibt.

Alle theoretischen Modelle werden zu diesem Zweck auf das effektive Rauschen der Gate-Source-Spannung bezogen. Für die Herleitung dieser Zusammenhänge sei auf Anhang B.2 verwiesen. Dort befindet sich auch eine Erläuterung zur äquivalenten Rauschbandbreite der Operationsverstärker, die nach den Angaben aus dem Datenblatt [84] für weißes Rauschen $B = 18 \text{ kHz}$ beträgt. Desweiteren werden in den Berechnungen Zahlenwerte für den Kanalwiderstand $R_K = 250 \text{ k}\Omega$, die Transkonduktanz $g_m = 12 \text{ }\mu\text{S}$ und das Gesamtrauschen $V_{GS,rms} = 80 \text{ }\mu\text{V}$ zugrunde gelegt, die den Charakteristika des Transistors aus Grafik 4.7 im Arbeitspunkt $V_{GS} - V_{th} = -0,4 \text{ V}$ entnommen sind.

Das thermische Kanalrauschen wird durch Formel 4.2 beschrieben. Gegenüber dem thermischen Rauschen eines Widerstands wird die ungleichmäßige Ladungsträgerkonzentration im Sättigungsbereich mit einem Vorfaktor von $2/3$ berücksichtigt [89]. Ferner sind k die Boltzmannkonstante und T die absolute Temperatur.

$$V_{GS,thermisch} = \sqrt{\frac{2}{3} \cdot \frac{4k_B T}{R_K g_m^2} \cdot B} \quad (4.2)$$

Damit ergibt sich ein Beitrag von $V_{GS,thermisch} = 2,5 \text{ }\mu\text{V}$. Einen höheren Beitrag von $V_{GS,Schrot} = 10 \text{ }\mu\text{V}$ liefert das Schrotrauschen gemäß Ausdruck 4.3. Hierbei ist e die Elementarladung.

$$V_{GS,Schrot} = \sqrt{\frac{2eI_0}{g_m^2} \cdot B} = \sqrt{\frac{e(V_{GS} - V_{th})}{g_m} \cdot B} \quad (4.3)$$

Darüber hinaus liefern der Verstärker, die Drift und das $1/f$ -Rauschen bedeutende Anteile an der gesamten Varianz von V_{GS} . Der erste Wert beträgt Testmessungen zufolge etwa $18 \text{ }\mu\text{V}$, so dass nur die beiden letzten Werte übrig bleiben, die sich nicht trennen lassen. Deshalb kann nur ein Wert für die Summe angegeben werden, indem die Leistungen aller anderen Beiträge abgezogen werden. Man erhält dann $V_{GS,Drift-1/f} = 77 \text{ }\mu\text{V}$. Von allen Rauschmechanismen ist dies der bei weitem größten Einfluss, was konsistent mit der Extrapolation für eine unendlich große Kanalbreite ist (s. Abbildung 4.9).

Das McWorther-Modell lässt sich gut an diesen letzten Anteil fitten. Dies ist bemerkenswert, da bei p-Kanal Transistoren in der Regel das Hooge-Modell gültig

4. Elektrische Charakterisierung

ist [77]. Als Erklärung hierfür wird angegeben, dass bei p-Kanal Transistoren das gesamte Volumen (englisch *bulk*) eine größere Rolle spielt. Dass dies hier nicht beobachtet werden kann, liegt an der Geometrie der NWs, die keinen Bulk besitzen.

Über Formel 4.4 lässt sich durch Integration über die Frequenz eine Beziehung zwischen $V_{GS,1/f}$ und der Dichte der Störstellen N_t herleiten. Hierbei sind e , k_B und T die Elementarladung, die Boltzmannkonstante und die absolute Temperatur, sowie $\lambda = 10^{-10}$ m die Tunnellänge in Silicium, $c_{ox} = 2,9 \cdot 10^{-3} \text{ F m}^{-2}$ die flächenbezogene Oxidkapazität bei einer Dicke von 12 nm, $W = 500$ nm die Gate-Breite und $L = 3 \mu\text{m}$ die Länge der Nanowires.

$$S_{V_{GS}, McWorther} = \frac{e^2 \lambda k_B T N_t}{2 c_{ox}^2 W L} \cdot \frac{1}{f} \quad (4.4)$$

Integriert man von 0,5 Hz (kleinster vollständiger Beitrag bei einer Sekunde Messzeit) bis 18 kHz (Obergrenze des Verstärkers) und nimmt für $V_{GS,1/f}$ die vollen $77 \mu\text{V}$ an, so ergibt sich für N_t eine Obergrenze von $2 \cdot 10^{17} \text{ cm}^{-3} \text{ eV}^{-1}$. Gaubert et al. bezeichnen einen Wert, der eine Größenordnung darunter liegt, als Beweis für „the very good quality of the technological processes“ [77]. In Anbetracht der Tatsache, dass die zugrundeliegende Rauschleistung auch die Drift enthält, ist die Abschätzung durchaus plausibel. Da Ausdruck 4.4 auch Geometrieparameter enthält, lässt sich für das Design der NW-Transistoren ableiten, dass eine größere Länge und Breite sich günstig auf das Rauschen auswirken. Allerdings würde eine zu große Breite zu einem Verlust der NW-spezifischen Vorteile bei der Kopplung führen.

Darüber hinaus wurde eine gute Lösung für die Proteinbeschichtung zur Kultivierung von Zellen gefunden. Da die gängigen Methoden zur Oberflächenaktivierung (O_2 -Plasma oder Schwefelsäure) mit Nachteilen verbunden waren, stellte sich eine Beschichtung mit Gelatine-Fibronectin ohne vorherige Aktivierung für die elektrophysiologischen Experimente als die günstigste heraus.

4.4. Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die NW-Transistoren hinreichend gut mit den vorhandenen Modellen beschrieben werden können. Dies ist vorteilhaft für die quantitative Auswertung der weiteren Ergebnisse. Es ist zu erwarten, dass

4.4. Zusammenfassung

sich die verbesserte Kontrolle des Drain-Stroms über das Gate günstig für die Anwendung als Biosensor erweist. Desweiteren wurde gezeigt, dass die Untersuchung aller Rauschmechanismen ein konsistentes Bild ergibt, das zur Optimierung des Chipdesigns herangezogen werden kann. Auch die Eignung der Chips für Zellmessungen in Bezug auf Stabilität, Empfindlichkeit und Oberflächenbeschichtung ist gegeben.

5. Messungen mit Zellen

Wenn man das Unmögliche ausgeschlossen hat, dann ist das, was übrig bleibt, die Wahrheit, wie unwahrscheinlich sie auch ist.

(Sir Arthur Conan Doyle, britischer Arzt und Schriftsteller, 1859 - 1930 in „Sherlock Holmes“)

5.1. Einleitung

In diesem Kapitel geht es um den Einsatz der zuvor charakterisierten NW-Transistoren als Sensoren in elektrophysiologischen Experimenten. Da in den bisherigen Veröffentlichungen zu diesem Thema die Machbarkeit solcher Messungen im Vordergrund stand, jedoch kaum darauf eingegangen wurde, wie die Kopplung zwischen Zelle und Nanowire physikalisch genau zustande kommt, ist dies der Schwerpunkt der folgenden Untersuchungen. Zunächst wird dargelegt, wie extrazelluläre Ableitungen von HL-1 Zellen durchgeführt und elektrophysiologisch interpretiert wurden (s. Abschnitt 5.2). Dem folgt eine Untersuchung des Abdichtwiderstands bei HEK Zellen, im Weiteren auch Kopplungsmessungen genannt (s. Abschnitt 5.3). Für diese recht aufwendigen Experimente werden die theoretischen Grundlagen entwickelt und auf die gewonnenen Daten angewendet. Am Ende steht eine quantitative Analyse der Zell-Nanowire-Kopplung, aus der, gestützt durch REM Aufnahmen, Folgerungen für eine optimale Sensorgeometrie gezogen werden.

5.2. Extrazelluläre Ableitungen von Cardiomyocyten

5.2.1. Eigenschaften von HL-1 Zellen

Für die extrazelluläre Ableitung von elektrischer Aktivität wurden *HL-1 Zellen* verwendet. Bei diesen Zellen handelt es sich um eine Zelllinie von Herzmuskelzellen. Sie wurden ursprünglich 1998 von Claycomb et al. aus dem Herztumor einer Maus gewonnen [90] und besitzen sowohl die Eigenschaften eines Tumors auch die wichtigsten von gesunden Herzzellen. Konkret bedeutet dies, sie teilen sich einerseits unendlich oft. Andererseits zeigen sie spontane elektrische Aktivität und kontrahieren wie gesunde Herzzellen. Folglich können sie in einem Brutschrank vermehrt werden, so dass jederzeit Zellen für Experimente zur Verfügung stehen, ohne ein Versuchstier zu töten. Außerdem können Aktionspotentiale ohne vorherige Stimulation beobachtet werden. Damit sind sie ideal geeignet, um die Ableitung mit NWs mit geringem experimentellen Aufwand zu untersuchen.

Abbildung 5.1 zeigt ein typisches AP von HL-1 Zellen. Aufgrund ihrer Herkunft aus dem *Vorhof (Atrium)* des Mausherzens weist das Membranpotential einen ähnlichen Verlauf auf, wie bei *atrialen Cardiomyocyten in vivo*. Aus den speziellen Bedingungen in Kultur können sich jedoch kleine Unterschiede ergeben [91, 92]. Insbesondere wurde von Kraushaar et. al gezeigt, dass sich die Zellen zu mindestens zwei unterschiedlichen Typen ausdifferenzieren können [93]. Es wurde aber immer beobachtet, dass es im zeitlichen Verlauf vier Phasen gibt (Nummern in der Grafik):

1. Um sich untereinander zu synchronisieren, besitzen Herzzellen eine spezielle Sorte von Ionenkanälen von Zelle zu Zelle, die *gap-junctions*. Während der Ausbreitung eines APs wird eine Zelle über diese Kanäle von ihren Nachbarn depolarisiert. Dies führt zu einem ersten Anstieg des Membranpotentials.
2. Als Folge dieser anfänglichen Depolarisation öffnen spannungsgesteuerte Natrium(I)-Kanäle (s. Abschnitt 2.4.2) und lassen das Membranpotential sehr steil bis zu einem Wert von etwa 30 mV - 40 mV ansteigen.
3. Im Maximum öffnen sich spannungsaktivierte Kalium(I)-Kanäle, so dass das intrazelluläre Potential wieder fällt. Im Gegensatz zu neuronalen APs verläuft dieser Abfall langsamer und hat eine Art „Buckel“. Dieser kommt durch den Einstrom von Calcium(II)-Ionen durch entsprechende Kanäle zustan-

5.2. Extrazelluläre Ableitungen von Cardiomyocyten

de, die sich nahezu synchron zu den Kalium(I)-Kanälen öffnen. So wird die Repolarisation verzögert.

4. Schließen sich die Calcium(II)-Kanäle nach einiger Zeit wieder, fällt das Membranpotential schneller. Schließlich erfolgt eine vollständige Repolarisation und das Potential erreicht seinen ursprünglichen Wert.

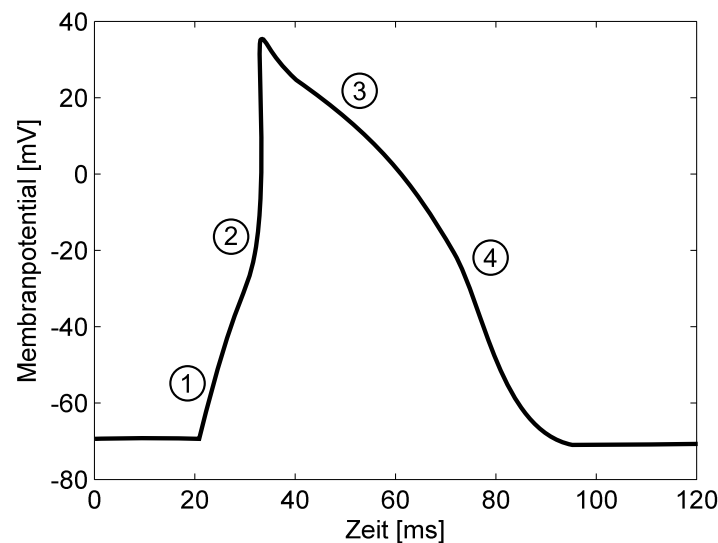


Abbildung 5.1.: Skizze vom Aktionspotential einer HL-1 Zelle. Die Grafik zeigt schematisch den typischen zeitlichen Verlauf des Membranpotentials [91, 92, 94]. Die Nummern kennzeichnen den Beginn der einzelnen Phasen (s. Text).

Da es im Verlauf dieser APs zu einem Stromfluss über die Zellmembran kommt, baut sich in dessen Folge ein elektrisches Potential im Spalt zwischen Zellschicht und Substrat beziehungsweise Transistor auf (s. Gleichung 2.28). In Grafik 5.2 ist ein solches extrazelluläres Signal exemplarisch abgebildet. Es handelt sich dabei um das Ergebnis einer Messung mit einem planaren p-FET [73]. Der schwarze Verlauf zeigt das gemittelte Signal aus insgesamt 57 aufeinanderfolgenden Ableitungen (grau) mit einem Transistor. Die gestrichelte, weiße Linie ist die Nulllinie.

Mit Hilfe von Computersimulationen und pharmakologischen Experimenten konnten Ingebrandt et. al die einzelnen Phasen der extrazellulären Signale (ge-

5. Messungen mit Zellen

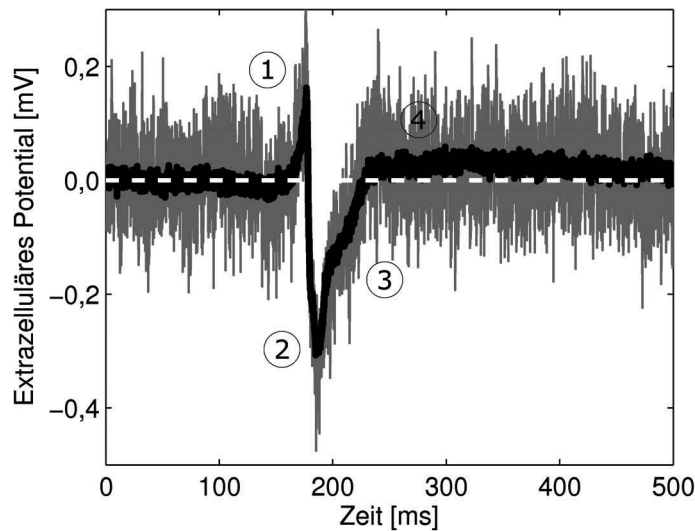


Abbildung 5.2.: Extrazelluläre Ableitung eines HL-1 Aktionspotentials. Das Signal wurde mit einem planaren p-FET gemessen. Die schwarze Linie zeigt den Mittelwert aus 57 Kurven, die in Grau dahinter gelegt sind. Die gestrichelte weiße Linie ist die Nulllinie.

kennzeichnet mit eins bis vier) bei primären Cardiomyozyten der Ratte den obigen physiologischen Ursprüngen zuordnen [95]:

1. Wird eine Zelle über gap-junctions von ihren Nachbarn depolarisiert, sind ihre spannungsaktivierten Kanäle noch geschlossen. Deshalb kann über die adhärenzte Zellmembran lediglich ein auswärtsgerichteter kapazitiver Strom fließen. Gemäß Gleichung 2.33 stellt sich dadurch eine positive Spannung im Spalt zwischen Zelle und Transistor ein.
2. Öffnen sich nun die Natrium(I)-Kanäle, fließt über die Membran ein Faraday'scher Strom in die Zelle. Dieser führt zu einem raschen Abfall des extrazellulären Potentials.
3. In dieser Phase des APs öffnen die Kalium(I)-Kanäle, so dass die Spannung im Spalt wieder steigt. Dieser Anstieg wird allerdings durch die leicht verzögert einsetzenden einwärtsgerichteten Calcium(II)-Ströme kompensiert, so dass sich ein kleines Plateau bildet.

5.2. Extrazelluläre Ableitungen von Cardiomyocyten

4. Wenn sich die Calcium(II)-Kanäle nach kurzer Zeit wieder schließen und nur noch Kalium(I)-Ströme aus der Zelle fließen, erreicht das extrazelluläre Potential einen kleinen positiven Wert. Da die Repolarisation langsamer verläuft, als die Depolarisation ist dieser Peak wesentlich flacher und breiter, als die beiden zuvor. Nach der vollständigen Repolarisation fließen über die Zellmembran netto keine Ströme mehr. Die Spannung im Spalt verschwindet.

Entsprechende Experimente wurden analog auch mit den NW-Transistoren durchgeführt, so dass ein Vergleich möglich ist. Im nächsten Abschnitt wird nun die Vorbereitung der Chips geschildert.

5.2.2. Zellkultur und Präparation der Chips

Drei Tage vor den Messungen wurden auf die mit einer Mischung aus Gelatine und Fibronectin beschichteten Chips (s. Anhang C.4.1) HL-1 Zellen in einer Konzentration von 10^5 Zellen/cm² ausgesät. Diese wurden in einem angereicherten Claycomb-Medium (s. Tabelle C.3) kultiviert, das jeden Tag sowie drei Stunden vor den Experimenten ausgetauscht wurde. Für die Messungen wurden nur solche Chips verwendet, bei denen sich eine dichte (*konfluente*) Zellschicht gebildet hatte (s. Abbildung 5.3), da bekannt ist, dass so eine spontane elektrische Aktivität und eine Ausbreitung der Aktionspotentiale durch die gap-junctions am besten gewährleistet ist [90].

5.2.3. Messergebnisse

Insgesamt konnten extrazelluläre Signale mit sechs Chips mehrmals, d.h. mit unterschiedlichen Zellpassagen, erfolgreich gemessen werden. Abgesehen von der Drift des Transistorstroms waren die Messungen über ungefähr zwei Stunden stabil und wiesen eine hohe Reproduzierbarkeit auf. Dabei wurden ausschließlich, und mit gleicher Häufigkeit, die beiden Verläufe beobachtet, die in Abbildung 5.4 gezeigt werden. Unabhängig von der Signalform traten die APs jeweils mit einer großen Regelmäßigkeit auf (siehe eingebettete Grafiken). Jedes mit ein und demselben Transistor gemessene AP war nahezu identisch. Allerdings existierten zwischen den beiden Typen signifikante Unterschiede: Beide Verläufe beginnen zunächst mit einem kurzen Spannungsanstieg (eins) und einem schnellen -abfall (zwei). Im nachfolgenden Anstieg sieht man oben ein leichtes Plateau (drei), das man im

5. Messungen mit Zellen

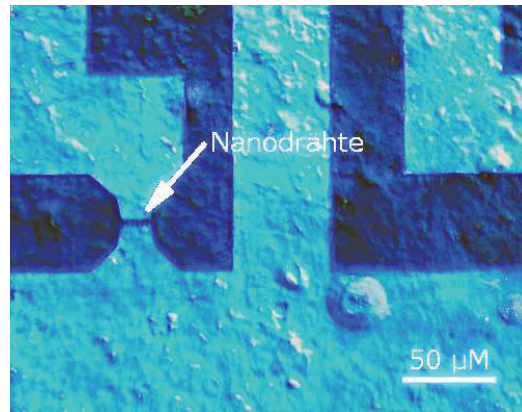


Abbildung 5.3.: Konfluente Schicht von HL-1 Zellen auf einem NW-Chip. Der Pfeil kennzeichnet einen Transistor aus sechs jeweils 500 nm breiten NWs.

unteren Verlauf bestenfalls erahnen kann. Hierauf lässt sich jeweils ein positiver „Buckel“ (vier) erkennen. Während dieser oben nur sehr schwach ausgeprägt ist, ist er unten fast genauso hoch, wie die anfängliche Spitze.

Die Signale ähneln denen der planaren Transistoren stark und die unterschiedlichen Phasen der Aktionspotentiale lassen sich gut erkennen, obwohl bei den NW-Transistoren keine Mittlung durchgeführt wurde. Dies liegt zum einen daran, dass die Amplitude höher war. Zum anderen wurde ein niedrigeres gatebezogenes Rauschen beobachtet. Während planare FETs hier mindestens einen RMS-Wert von $85 \mu\text{V}$ (typisch: 100 bis $200 \mu\text{V}$) aufwiesen, lag das Minimum bei NW-Transistoren bei $34 \mu\text{V}$ (Durchschnitt: $47 \mu\text{V}$, Standardabweichung: $15 \mu\text{V}$) [96–99].

Neben der reinen Form der Signale wurde auch deren Ausbreitung über den Chip untersucht. Abbildung 5.5 zeigt die Aktionspotentiale, die während einer Messung entlang der Hauptdiagonalen eines Chips auftraten. Um eine bessere klarere Darstellung zu erreichen, sind die Basislinien gegeneinander verschoben und durch eine gepunktete Linie kenntlich gemacht. Außerdem ist jeweils das erste Maximum hervorgehoben und der Zeitversatz relativ zur untersten Spitze auf der Abszisse angegeben.

Daraus ergeben sich eine durchschnittliche Laufzeit von 18 ms ($\sigma = 4,0 \text{ ms}$) und, bei einem Abstand der Transistoren von $\sqrt{2} \cdot 200 \mu\text{m}$, eine mittlere Ausbreitungsgeschwindigkeit von circa 15 mm/s. Dies entspricht etwa dem Wert, der auch bei

5.2. Extrazelluläre Ableitungen von Cardiomyocyten

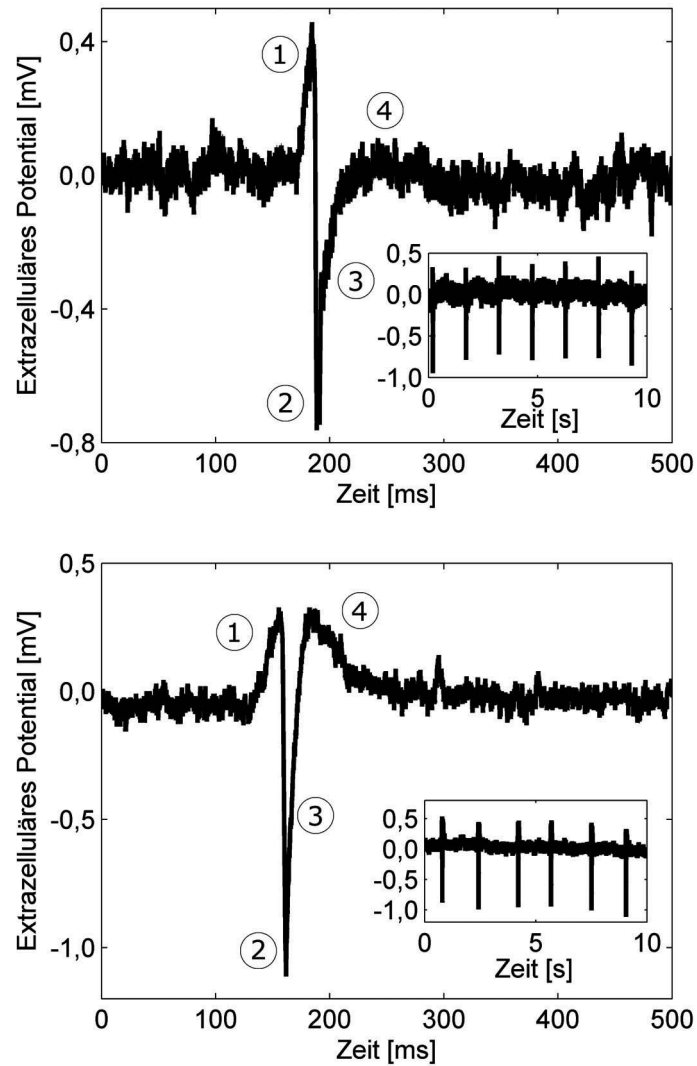


Abbildung 5.4.: Extrazelluläre Ableitungen von HL-1 Zellen mit NW-Transistoren. Es wurden zwei Typen von Aktionspotential gemessen, die sich hauptsächlich im hinteren Teil des Signals unterschieden. Die eingebetteten Grafiken zeigen jeweils einen längeren Zeitraum derselben Messung. Anmerkung: Um den Verlauf jeweils so groß wie möglich darzustellen, wurden oben und unten unterschiedliche Skalierungen verwendet.

5. Messungen mit Zellen

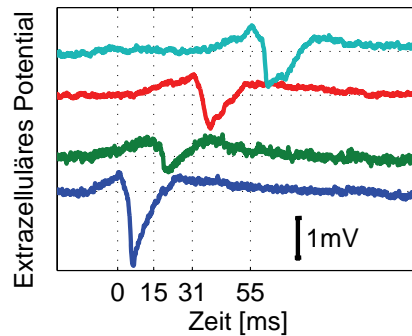


Abbildung 5.5.: Ausbreitung der HL-1 Signale über den Chip. Die Aktionspotentiale wurden gleichzeitig entlang der Hauptdiagonalen eines Chips (Kanäle 1, 6, 11 und 16) gemessen. Sie sind für eine bessere Übersicht versetzt dargestellt. Aufgrund der Signalfortpflanzung haben die Signale einen zeitlichen Versatz. Dies ist ein indirekter Nachweis, dass diese nicht von einer Einkopplung oder sonstigen Störung herrühren können.

Cardiomyocyten gemessen wurde [100] und zeigt, dass die Zellen während der Messung in einem physiologisch einwandfreien Zustand waren. Es ist ferner ausgeschlossen, dass eine äußere Störung die Signale verursacht hat. Sie wäre auf allen Kanälen gleichzeitig zu sehen.

Um die Eignung der NW-Transistoren für pharmakologische Experimente zu erproben, wurde mit einem Chip die Wirkung des Neurotoxins *Tetraethylammonium* (TEA) auf die Zellen untersucht. Die drei Kurven in Grafik 5.6 zeigen aus jeweils 17 Aktionspotentialen gemittelte Signalverläufe vor (blau) beziehungsweise 30 Sekunden nach der Zugabe von TEA (rot), sowie einige Minuten später (grün). Man kann erkennen, dass sowohl der positive, als auch der negative Peak zunächst deutlich niedriger wurden. Die grüne Kurve hingegen weist wieder eine größere Amplitude auf. Auch die Form ähnelt der ursprünglichen wieder stärker. Ein eindeutiger Effekt auf die Schlagfrequenz (ohne Abbildung) hingegen war nicht festzustellen.

Diese Ergebnisse lassen sich folgendermaßen mit der physiologischen Wirkung von TEA in Verbindung bringen: TEA blockiert selektiv die spannungsaktivierten Kaliumkanäle in der Membran der Zellen. Deshalb kann nur noch eine unvollstän-

5.2. Extrazelluläre Ableitungen von Cardiomyocyten

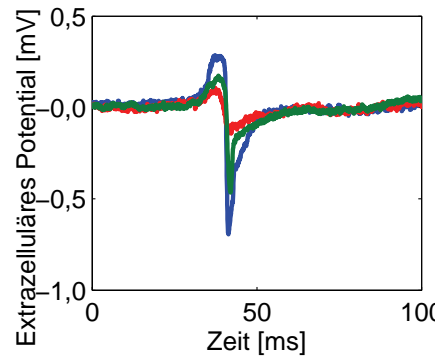


Abbildung 5.6.: Extrazelluläre Ableitung von HL-1 Zellen vor (blau) und 30 Sekunden nach (rot) der Zugabe von Tetraethylammonium (TEA), sowie wenige Minuten später (grün). Das Neurotoxin verringert zunächst die Amplitude der Aktionspotentiale, die aber kurze Zeit danach wieder ansteigt.

dige Repolarisation stattfinden. Infolgedessen werden geringere Ströme benötigt, um die Zellen für ein Aktionspotential zu depolarisieren, so dass die Ausschläge des extrazellulären Potentials vermindert werden. Nach einiger Zeit können die Zellen sich auf diese Umstände einstellen. Durch eine Aktivierung der Natrium-Kalium-Pumpe kann indirekt eine bessere Repolarisation erreicht werden, was die „Erholung“ des Signalverlaufs erklären würde [101].

5.2.4. Diskussion

Die direkte Ableitung (ohne Filterung oder Lock-In-Verstärkung) der Aktionspotentiale von HL-1 Zellen zeigte, dass sich die Signale von planaren und NW-Transistoren entsprechen. Es wurden zwar zwei unterschiedliche Verläufe beobachtet, aber beide entsprachen qualitativ den bereits veröffentlichten Primärzell-Signalen von Ratten [95]. Insbesondere das AP in Abbildung 5.4 oben war nahezu identisch mit dem häufigsten Typ (95 % aller Messungen) aus dieser Publikation. Dementsprechend ist es möglich, eine Zuordnung zu den entsprechenden physiologischen Vorgängen durchzuführen.

Kraushaar et al. demonstrierten erst kürzlich, dass in HL-1 Kulturen, anders als bisher angenommen, mindestens zwei Typen von Zellen mit unterschiedlichen

5. Messungen mit Zellen

Aktionspotentialen existieren: Schrittmacher-Zellen und „reguläre“ Cardiomyozyten [93]. Obwohl es sich bei dieser Untersuchung um Mikroelektroden-Arrays handelte, ist eine Zuordnung der hier gezeigten Messungen zu einem der beiden Typen stets möglich. Die Unterschiede bei den Signalen rührten daher mit großer Wahrscheinlichkeit von der Verschiedenartigkeit der Zellen und resultierten nicht etwa von anderen Ursachen, zum Beispiel unterschiedlich guter Adhäsion auf den Chips. Zusammen mit der Tatsache, dass die Zugabe des Neurotoxins TEA zu den erwarteten Effekten führte, ist die Annahme gerechtfertigt, dass die bestehenden Modelle der Zell-Transistor-Kopplung auf die Nanowire-Transistoren angewendet werden können. Es müssen daher keine grundsätzlich neuen Methoden entwickelt werden müssen, um die Signale der NWs zu interpretieren. Dies würde eine Substitution der planaren Transistoren durch diese erleichtern. Der höhere Fertigungsaufwand ist durch ein verbessertes Signal-Rausch-Verhältnis gerechtfertigt.

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

5.3.1. Eigenschaften von HEK293 EAG Zellen

Bei den Zellen, die in den folgenden Experimenten verwendet wurden, handelt es sich um *HEK293 EAG* Zellen. Sie wurden ursprünglich aus embryonalen menschlichen Nierenzellen erzeugt. Daher stammt die Bezeichnung „HEK“, die für den englischen Begriff „human embryonic kidney“ steht. Durch *Transformation* mit DNA aus dem menschlichen Adenovirus Typ 5 wurden diese Zellen *immortalisiert* [102]. Das heißt, sie teilen sich unendlich oft und können daher beliebig lange in Kultur gehalten werden. Der Zusatz „EAG“ bezieht sich auf eine weitere genetische Modifikation, die die Zellen spezielle Kaliumkanäle (*bEAG1* und *bEAG2*) exprimieren lässt [103]. Daher eignen sie sich gut für elektrophysiologische Studien.

In den hier gezeigten Untersuchungen spielten die Eigenschaften dieser Kanäle eine untergeordnete Rolle. Die HEK Zellen wurden vor allem deshalb verwendet, weil sie sich häufig teilen, so dass ein komplettes Kopplungsexperiment inklusive Präparation der Chips, Aussähen und Kultivierung innerhalb von drei Tagen durchgeführt werden konnte. Im Gegensatz zu HL-1 Zellen ist es für die physiologische Funktionalität nicht erforderlich, dass Konfluenz erreicht wird. Deshalb konnte

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

die Kopplung einzelner Zellen mit den NW-Transistoren untersucht werden. Bei der richtigen Ausgangsdichte adhärten diese, erkennbar an ihrer Morphologie, gut auf dem Substrat und vermehrten sich so weit, dass sie einige NW-Transistoren bedeckten.

Ziel der im Folgenden beschriebenen Transferfunktionsmessungen war es, genau diese Adhäsion quantitativ zu charakterisieren. Das Punktkontakt-Modell (s. Abschnitt 2.4.4) liefert mit dem Parameter R_J , dem Abdichtwiderstand, ein Kriterium für die Qualität der Kopplung. Diese elektrische Untersuchung wurde durch elektronenmikroskopische Aufnahmen ergänzt. In der Diskussion auf Seite 122 werden die Ergebnisse untereinander sowie mit Werten von planaren Transistoren verglichen. Zunächst folgt eine Einführung in die zugrundeliegende Methodik.

5.3.2. Messprinzip

Wie bereits in den Grundlagen beschrieben (s. Abschnitt 2.4.3), erlaubt das Patch-Clamp Verfahren, das Innere von Zellen elektrisch zu kontaktieren. Es ist also möglich, ein Signal in eine Zelle einzuspeisen, die sich auf einem NW befindet, und gleichzeitig zu messen, wie der Transistorstrom I_D darauf reagiert. Dieses Verfahren wurde bereits von Weis et al. eingesetzt, um den Abdichtwiderstand von Blutegelneuronen zu bestimmen [55].

Abbildung 5.7 zeigt schematisch die experimentelle Situation: Eine auf einem NW befindliche Zelle wird mit einer Patchpipette kontaktiert. Die darübergelegte, schwarz dargestellte Schaltung ergibt sich im Wesentlichen aus dem Hodgkin-Huxley-Modell (s. Seite 38). Solange die Zelle sich im Ruhezustand befindet, das heißt nur Leckkanäle geöffnet sind, vereinfacht sich das Ersatzschaltbild für die Zellmembran zu einer Parallelschaltung aus einer Konduktanz und einer Kapazität. Sowohl der freie Teil der Membran (G_{FM} bzw. C_{FM}), als auch der adhärte Teil (G_{JM} bzw. C_{JM}) kann so modelliert werden. Zusätzlich beschreibt der Abdichtwiderstand R_J aus dem Punktkontakt-Modell (s. Seite 45), der sich zwischen der adhärten Membran und Masse befindet, die Güte der Kopplung. Die Patchpipette wird in der Schaltung als einfache Leitung dargestellt, die das Zellinnere über einen Serienwiderstand (R_S) mit dem Patch-Verstärker (EPC10 von HEKA) verbindet. Die physikalische Ursache für diesen Widerstand sind der geringe Querschnitt der Pipette und eine teilweise Verstopfung ihrer Spitze durch Zellfragmente

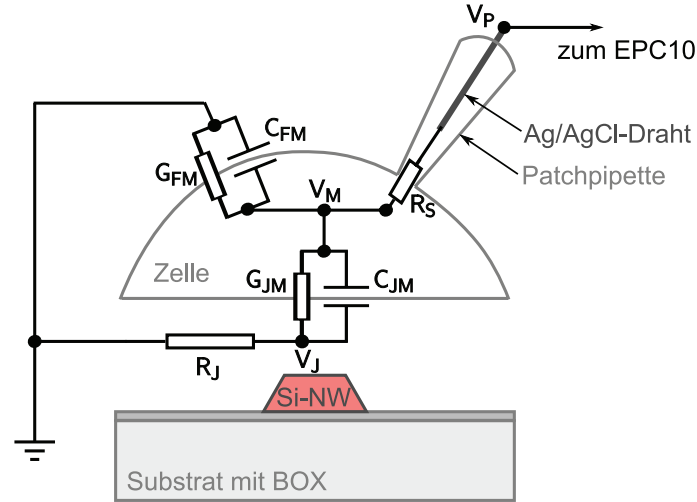


Abbildung 5.7.: Messprinzip und Ersatzschaltbild für die Bestimmung des Abdichtwiderstands mit Transferfunktionsmessungen.

beim Öffnen der Plasmamembran.

In dieser Konfiguration kann das intrazelluläre Potential V_M durch Anlegen einer Spannung V_P an die Pipette eingestellt werden. Beide Spannungen sind nicht identisch, sobald Strom über die Membran fließt. Der Widerstand R_S und die restlichen Elemente der Schaltung bilden einen Spannungsteiler, so dass der Betrag von V_M dann geringer ist, als derjenige von V_P . Der Strom, der über die adhärirte Membran fließt, führt zu einem Spannungsabfall über dem Abdichtwiderstand, der letztendlich zu einer Modulation des Stroms durch den Nanodraht führt. Da die Größe dieses Spannungsabfalls proportional zu R_J ist, kann durch eine Messung von V_J auf dessen Größe geschlossen werden. Zunächst wird die die Transferfunktion $\overline{H}(\omega) = \frac{\overline{V_J}}{\overline{V_P}}$ bestimmt. Sie setzt sich aus drei Anteilen zusammen:

- Teilung der Pipettenspannung (H_M)
- Beziehung zwischen Membranpotential und Spannung am NW (H_J)
- Frequenzgang des übrigen Messaufbaus (H_S)

Die komplexe Übertragungsfunktion $\overline{H}_M(\omega) = \frac{\overline{V_M}}{\overline{V_P}}$ vereinfacht sich, wenn man die konkreten Bedingungen berücksichtigt: Zum einen weisen die verwendeten HEK Zellen einen sehr geringen Ruheleitwert der Membran auf. Deshalb können G_{FM} und G_{JM} näherungsweise zu Null gesetzt werden:

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

$$\overline{H_M}(\omega) = \frac{\overline{V_M}}{\overline{V_P}} \approx \frac{1}{R_S \left(j\omega C_{FM} + \frac{j\omega C_{JM}}{j\omega R_J C_{JM} + 1} \right) + 1} \quad (5.1)$$

Diese Funktion enthält den gesuchten Abdichtwiderstand R_J als Parameter. Damit aus den Messdaten auf die gesuchte Transferfunktion $H_J(\omega)$ geschlossen werden kann (s. Abschnitt 5.3.5 für Details), muss dieser Parameter eliminiert werden. Bei den meisten Frequenzen ist der Term $\omega R_J C_{JM} \ll 1$, so dass sich obige Gleichung folgendermaßen vereinfachen lässt:

$$\overline{H_M}(\omega) \approx \frac{1}{j\omega R_S (C_{FM} + C_{JM}) + 1} = \frac{1}{j\omega R_S C_M + 1} \quad (5.2)$$

Die Voraussetzung für diese Näherung ist insbesondere hohen Frequenzen ($f = O(10 \text{ kHz})$) und großen Abdichtwiderständen R_J nicht mehr zulässig und führt bei typischen Werten der anderen Parameter (R_S , C_{FM} und C_{JM}) zu Fehlern in der Größenordnung von 20 %. Es gibt einige Messungen, bei denen dies der Fall ist. Bei der Analyse dieser Ergebnisse wird auf diese Problematik noch einmal gesondert eingegangen (s. Abschnitte 5.3.5 und 5.3.6).

Neben dem Serienwiderstand und den Membrankapazitäten bilden auch C_{JM} und R_J einen komplexen Spannungsteiler. Die entsprechende Transferfunktion $H_J(\omega)$ ist in Formel 5.3 angegeben. Das gesamte Verfahren zielt auf die Bestimmung dieser Funktion ab, da sich aus ihr der gesuchte Abdichtwiderstand R_J ermitteln lässt.

$$\overline{H_J}(\omega) = \frac{\overline{V_J}}{\overline{V_M}} = \frac{j\omega R_J C_{JM}}{j\omega R_J C_{JM} + 1} \quad (5.3)$$

H_J ist aber nicht direkt zugänglich. Die gemessene Übertragungsfunktion $\overline{H}(\omega)$ ergibt sich vielmehr aus dem Produkt beider Ausdrücke und der Transferfunktion des Messaufbaus $\overline{H_S}(\omega)$:

$$\overline{H}(\omega) = \overline{H_M}(\omega) \cdot \overline{H_J}(\omega) \cdot \overline{H_S}(\omega) = \frac{\overline{V_J}}{\overline{V_P}} \approx \frac{j\omega R_J C_{JM}}{(j\omega R_S C_M + 1)(j\omega R_J C_{JM} + 1)} \cdot \overline{H_S}(\omega) \quad (5.4)$$

Die quantitative Auswertung der Ergebnisse setzt demnach die Kenntnis aller Frequenzgänge voraus. Daher beschäftigt sich der nächste Abschnitt mit der Beschreibung des gesamten Setups, der Charakterisierung der Messschaltung und des

5. Messungen mit Zellen

Patch-Verstärkers, und Details zur Übertragungsfunktion der NW-Transistoren. Darüber hinaus wird auf die Präparation der Chips und der Zellen für die Messungen eingegangen.

5.3.3. Durchführung der Transferfunktionsmessungen

Messaufbau

Da sich bei der 16-kanaligen Verstärkerbox (s. Abschnitt 4.2.2) bei hohen Frequenzen der Einfluss von parasitären Kapazitäten, Zuleitungswiderständen der Chips und der eingeschränkten Bandbreite des Impedanzwandlers zu stark negativ bemerkbar machten, wurde für die Messung der Transferfunktionen eine spezielle Messelektronik inklusive Software entwickelt, die möglichst einfach sein, gleichzeitig aber ein hohes Maß an Flexibilität ermöglichen sollte (s. Abbildung 5.8 und Anhang C.1.1). Die Hauptcharakteristika lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Es gibt nur einen Impedanzwandler für den Drain-Strom ohne Kompensation oder Nachverstärkung. Hierfür wurde OPA124 von BURR BROWN verwendet. Durch einen elektronischen Umschalter lässt sich der gewünschte Kanal auswählen.
- Hauptsächlich für Testzwecke (zum Beispiel Messung von Leckströmen) existieren auch Impedanzwandler für Source- und Gate-Kontakt. Sie sind ebenfalls ohne Kompensation oder Nachverstärkung
- Der Rückkoppelwiderstand lässt sich jeweils elektronisch umschalten, so dass die Charakterisierung der Transistoren bei hoher Verstärkung durchgeführt werden kann. Für die Transferfunktionsmessungen ermöglicht ein niedriger Widerstand eine größtmögliche Bandbreite.
- Alle Spannungen sind nach außen geführt, um einen externen Spannungsverstärker oder einen *Lock-In-Verstärker* (LI) anzuschließen. Außerdem können die Signale mit einer Messkarte (PCI-6071E von NATIONAL INSTRUMENTS) aufgezeichnet werden.
- Ein externes Kleinsignal kann bei Drain und Source zugeschaltet werden. Dadurch sind Transferfunktionsmessungen in jede beliebige „Richtung“ möglich, so dass beispielsweise parasitäre Kapazitäten bestimmt werden können. Ferner kann hier theoretisch ein Stimulationspuls eingespeist werden.

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

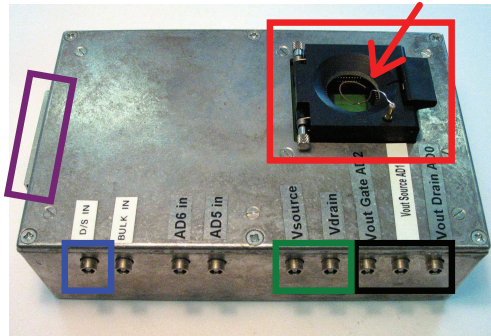


Abbildung 5.8.: Messelektronik für die Transferfunktionsmessungen. Die Halterung für den Chip ist rot umrandet, und der rote Pfeil kennzeichnet die Ag-AgCl-Elektrode. Die Ausgänge der Impedanzwandler sind schwarz und die für V_D und V_S grün hervorgehoben. Der Eingang für ein externes Signal hat einen blauen Rahmen und der Stecker für das SCSI-Kabel schließlich ist violett markiert.

Für die Messung wurde ein Chip mit Zellen in die Messbox eingelegt. Dann wurden die Zellen mit einer Patchpipette kontaktiert, die ihrerseits mit dem Patch-Verstärker verbunden war. Dieser besitzt einen Eingang für externe Signale, die zur Haltespannung (über die Pipette erzwungenes Membranpotential) addiert werden. So konnte die Zelle passiv, d.h. ohne Kanalaktivität, mit der Sinusquelle eines Lock-In-Verstärkers (SR830 von STANFORD RESEARCH) stimuliert werden. Wie im letzten Abschnitt erläutert, führte dies zu einer Modulation des Stroms durch den Transistor und damit zu einer Modulation der Ausgangsspannung am Impedanzwandler. Diese wurde zum einen Eingang (A) des LI geführt, während der Gleichanteil, d.h. das Potential des Drain-Kontakts im Arbeitspunkt, mit dem zweiten Eingang (B) verbunden wurde. Der Verstärker wurde so eingestellt, dass intern eine Subtraktion beider Signale erfolgte, um Gleichanteile zu unterdrücken. So wurde der Einfluss von äußeren Störungen minimiert. In Abbildung 5.9 ist der gesamte Aufbau schematisch dargestellt.

Die Vorgehensweise bei den Messungen war immer die folgende:

1. Auf dem Chip wurde unter dem Mikroskop ein Transistor herausgesucht, auf dem sich eine Zelle in viel versprechender Position befand.
2. Von diesem Transistor wurde eine I_D - V_{GS} -Kennlinie aufgenommen, um

5. Messungen mit Zellen

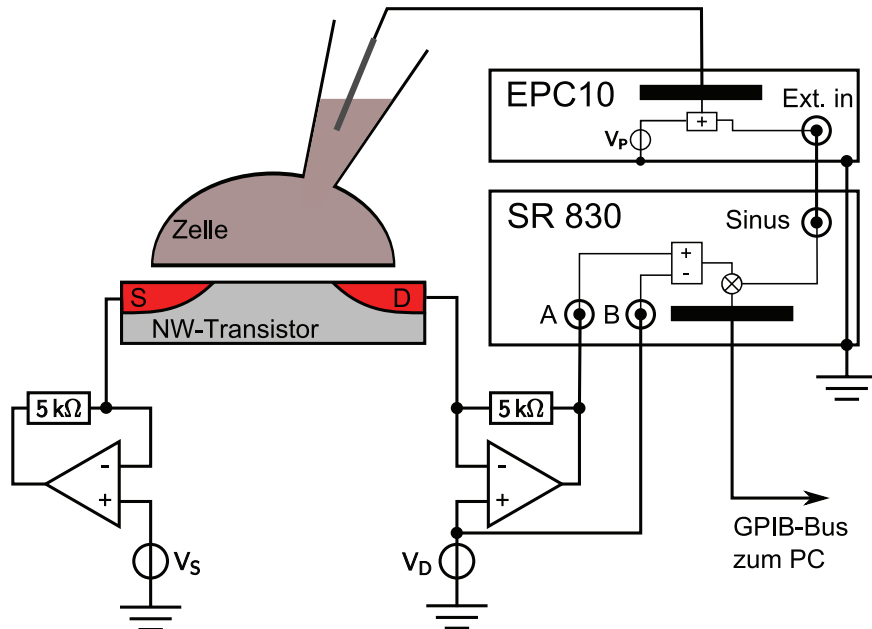


Abbildung 5.9.: Blockschaltbild der Transferfunktionsmessungen. Der Aufbau besteht aus einer selbst entwickelten Ausleseschaltung, die durch die beiden Impedanzwandler im unteren Teil der Grafik angedeutet ist, einem Lock-In Verstärker (SR830) für die Signalerzeugung und -erfassung, sowie einem Patch-Verstärker (EPC10) für die Stimulation der Zellen.

sicherzustellen, dass der Transistor funktioniert, einen geeigneten Arbeitspunkt zu finden und für die Auswertung später die Transkonduktanz g_m berechnen zu können.

3. Es wurde ein Arbeitspunkt mit $V_{DS} = -1,5 \text{ V}$ und maximaler Transkonduktanz eingestellt.
4. Die Zelle wurde mit der Patchpipette kontaktiert, so dass eine Whole-Cell-Konfiguration entstand (s. Abschnitt 2.4.3), und zu Dokumentationszwecken fotografiert. Das Membranpotential wurde stets auf -65 mV geklemmt, um sicherzustellen, dass alle spannungsaktivierten Kanäle geschlossen waren.
5. Über die automatische Kompensationsfunktion der PATCHMASTER-Software wurden die Kapazität der Zellmembran, die Leckleitfähigkeit und der Seri-

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

enwiderstand bestimmt.

6. Der Testpuls des EPC10 wurde in der Software abgeschaltet und der Stimulationseingang wurde aktiviert, um das Lock-In Signal an die Pipette anzulegen.
7. Die Frequenz am SR830 wurde bei gleichzeitiger Messung des Transistorstroms bzw. der Ausgangsspannung des Impedanzwandlers schrittweise erhöht.
8. Nach der Messung wurde überprüft, ob noch immer eine Whole-Cell-Konfiguration vorlag. Außerdem wurde der Serienwiderstand erneut bestimmt. Hatte dieser sich im Laufe der Messung stark verändert, wurde das Ergebnis verworfen.

Verwendete Chips

Für die Transferfunktionsmessungen wurden NW-Transistoren unterschiedlicher Geometrie verwendet, um deren Einfluss auf die NW-Transistor-Kopplung zu untersuchen. Die folgenden drei Varianten kamen zum Einsatz:

- Sechs parallele NWs mit einer Breite von 250 nm und 500 nm, einer Länge von $3\text{ }\mu\text{m}$ und einem Abstand von $1\text{ }\mu\text{m}$. Sie werden in der Folge der Einfachheit halber als „Typ6k“ bezeichnet.
- Einzelne NWs mit einer Breite von 250 nm und einer Länge von $3\text{ }\mu\text{m}$ („Typ1k“).
- Einzelne NWs mit einer Breite von 400 nm und einer Länge von $20\text{ }\mu\text{m}$ und $40\text{ }\mu\text{m}$ („Typ1l“).

Die ersten beiden Typen wurden mit dem im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Prozess und Layout hergestellt. Typ1l dagegen stammte aus einem parallel laufenden Projekt am IBN2. Sie wurden mir freundlicherweise von Herrn Xuan-Thang Vu zur Verfügung gestellt. Grundsätzlich unterscheiden sie sich kaum von den Chips dieser Arbeit. Für Details zu Layout und Charakteristika sei auf Anhang C.2 und auf Referenz [75] verwiesen.

Chippräparation und Zellkultur

Die Chips wurden zunächst vorbereitet, wie in Anhang C.4.1 beschrieben. Dann wurden die Zellen mit einer Dichte von 10^5 Zellen/ cm^2 in einem Volumen von $50\text{ }\mu\text{l}$

5. Messungen mit Zellen

ausgesät. Nach 3 Stunden waren sie so weit adhärirt, dass die Glasringe gänzlich mit Kulturmedium gefüllt werden konnten, ohne die Zellen durch den Flüssigkeitstrom von der Chipoberfläche zu spülen. So wurden die Zellen zwei Tage lang bei 37°C kultiviert. Für die Transferfunktionsmessungen wurde das Medium durch extrazelluläre Patchlösung ersetzt. Die Zusammensetzung des Mediums und der Patchlösungen befinden sich in Anhang C.4.3.

5.3.4. Elektrische Charakterisierung des Messaufbaus

Übertragungsfunktion des Patch-Verstärkers

Das Sinussignal des LI wird vom Patch-Verstärker gefiltert, bevor es an die Pipette angelegt wird. Bei dem Filter handelt es sich um einen Besselfilter zweiter Ordnung mit zwei wählbaren Zeitkonstanten: $20\ \mu\text{s}$ und $2\ \mu\text{s}$ [104]. In Abbildung 5.10 sind die normalisierten Übertragungsfunktionen für beide Fälle dargestellt. Der Frequenzgang wird zwar bei der Auswertung herausgerechnet, trotzdem ist es besser die kleinere Zeitkonstante von $2\ \mu\text{s}$ zu wählen, weil ein größeres Stimulationssignal zu einem besseren Signal-Rausch-Verhältnis führt.

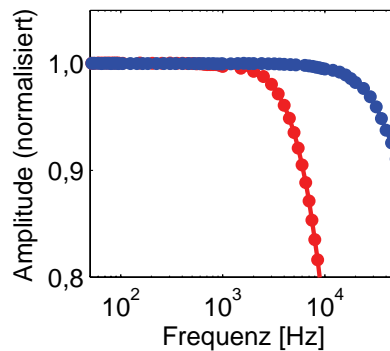


Abbildung 5.10.: Übertragungsfunktion des Patch-Verstärkers EPC10. Die blaue Kurve zeigt den Verlauf für eine Zeitkonstante von $2\ \mu\text{s}$, während eine Zeitkonstante von $20\ \mu\text{s}$ den roten Verlauf ergibt.

Übertragungsfunktion der Messbox

Sofern der Rückkoppelwiderstand klein genug gewählt wird, hat die Transferfunktion der Messbox einen geringen Einfluss auf das Messergebnis. Dies wird anhand von Grafik 5.11 deutlich. Die einzelnen Kurven zeigen den Verlauf für unterschiedliche Rückkoppelwiderstände im Impedanzwandler. Als Testbauelement für diese Messungen wurde ein $90\text{ k}\Omega$ Widerstand verwendet, da dies etwa dem Kanalwiderstand im Arbeitspunkt entsprach. Für $R_f = 5\text{ k}\Omega$ (blau) und $R_f = 50\text{ k}\Omega$ (rot) ist die normalisierte Amplitude bis zu einer Frequenz von 10 kHz fast exakt eins. Der leichte Anstieg darüber kommt durch parasitäre Kapazitäten zustande. Bei hohen Frequenzen fließen über sie Ströme, die sich dann bemerkbar machen. Die Amplitude bei 22 kHz , der höchsten Frequenz der Kopplungsmessungen, beträgt $1,01$ bzw. $1,02$ für $R_f = 5\text{ k}\Omega$ bzw. $R_f = 50\text{ k}\Omega$. Im Fall von hohen Rückkoppelwiderständen wie beispielsweise $R_f = 500\text{ k}\Omega$ (grün) und $R_f = 2\text{ M}\Omega$ (violett) ist die Bandbreite des Operationsverstärkers begrenzt, so dass die Übertragungsfunktion bei 10 kHz bzw. 3 kHz schnell abfällt. Bei den Transferfunktionsmessungen wurde deshalb meistens ein Widerstand von $5\text{ k}\Omega$ verwendet. In einigen Fällen war eine höhere Verstärkung erforderlich. Dies wird an entsprechender Stelle gesondert vermerkt.

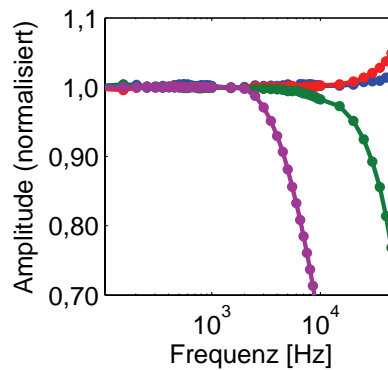


Abbildung 5.11.: Übertragungsfunktion der Messbox in Abhängigkeit vom Rückkoppelwiderstand (blau: $5\text{ k}\Omega$, rot: $50\text{ k}\Omega$, grün: $500\text{ k}\Omega$ und violett: $2\text{ M}\Omega$). Die Messungen wurden an einem Widerstand von $90\text{ k}\Omega$ durchgeführt, was dem Kanalwiderstand eines NW-Transistors im Arbeitspunkt entspricht.

Übertragungsfunktion der NW-Transistoren

Im Gegensatz zum Impedanzwandler (beziehungsweise der kompletten Messbox) besitzen die NW-Transistoren einen Frequenzgang, der sich bei den Messungen bemerkbar macht. Allerdings ist es nicht ohne Weiteres möglich, diesen zu bestimmen. Man kann zwar ein Signal auf die Gate-/Referenzelektrode geben, jedoch befindet sich auch ein großer Teil der Zuleitungen im Elektrolyt, so dass an dieser Stelle weitere parasitäre Kapazitäten entstehen. Dieses Problem wurde schon im Zusammenhang mit anderen Transferfunktionsmessungen am IBN2 beschrieben und durch Kapazitäten modelliert, die über die Fläche der Zuleitungen abgeschätzt wurden [73]. Diese Methode war hier nicht genau genug. Um alle parasitären Effekte messtechnisch zu erfassen, wurde die Transferfunktion einmal im Arbeitspunkt des späteren Kopplungsexperiments ($V_{GS} = V_{DS} = -1,5 \text{ V}$) und einmal bei einer Gate-Spannung V_{GS} von 0 V ($V_{DS} = -1,5 \text{ V}$) gemessen. Diese Methode beruht auf der Überlegung, dass $V_{GS} = 0 \text{ V}$ über der Schwellspannung des Transistors liegt. Deshalb kann kaum Strom durch den Kanal fließen und man erhält in erster Näherung nur den Einfluss der Zuleitungen. Im „richtigen“ Arbeitspunkt erhält man im Wesentlichen drei Anteile: Es werden die parasitären Kapazitäten, die Modulation des Drain-Stroms (äquivalent mit der Transkonduktanz) und ein kleiner kapazitiver Strom über die Gate-Kapazität gemessen. Werden beide Messungen voneinander subtrahiert, bleiben die letzten beiden Beiträge übrig, die auch in den Kopplungsexperimenten eine Rolle spielen. Da die Messungen mit einem Rückkoppelwiderstand von $5 \text{ k}\Omega$ erfolgten, kann der Einfluss der Messbox vernachlässigt werden. Die Übertragungsfunktionen für die verwendeten Transistorvarianten sind in Abbildung 5.12 dargestellt.

Da es zu aufwendig gewesen wäre, diese komplette Prozedur für jeden einzelnen Transistor durchzuführen und zwischen mehreren Messungen des gleichen Typs keine nennenswerten Unterschiede beobachtet werden konnten, wurden die gezeigten Kurven für die Korrektur aller Messungen zugrunde gelegt. Die Details der quantitativen Analyse folgen nun.

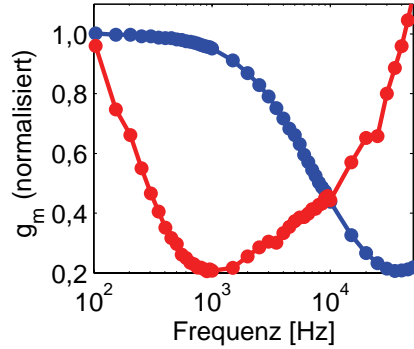


Abbildung 5.12.: Übertragungsfunktion beziehungsweise normalisierte Transkonduktanz der NW-Transistoren. Die blaue Kurve zeigt einen Transistor mit $3\text{ }\mu\text{m}$ Länge (Typ1k), die rote einen Transistor mit $20\text{ }\mu\text{m}$ Länge (Typ1l).

5.3.5. Korrekturverfahren und quantitative Auswertung

Vorgehensweise

Da in jeder gemessenen Transferfunktion alle in Gleichung 5.4 zusammengefassten Anteile enthalten waren, mussten die Einflüsse des Messsystems aus den Messdaten rechnerisch eliminiert werden, bevor eine quantitative Bestimmung des Abdichtwiderstands möglich war. Ziel dieser Korrekturen war es, die Übertragungsfunktion $H_J(f)$, also den Zusammenhang zwischen Änderungen des Membranpotentials V_M und der des Potentials im Spalt V_J , zu bestimmen. Daraus ließ sich schließlich über die (gefittete) Zeitkonstante $\tau = R_J C_{JM}$ der Abdichtwiderstand R_J berechnen.

Zu diesem Zweck diente ein MATLAB-Skript, das die Messwerte für jede Frequenz durch die herauszurechnenden Transferfunktionen dividierte. Der Quellcode dieses Programms befindet sich in Anhang C.3. Für den Einfluss des Signalwegs innerhalb des Messsystems wurden obige „Kalibrierkurven“ für den Patch-Verstärker (s. Abbildung 5.10), die Messbox (s. Abbildung 5.11) und die Transistoren (s. Abbildung 5.12) verwendet. Die Übertragungsfunktion für die Einkopplung der Pipettenspannung $H_M(\omega)$ musste hingegen jedes mal neu berechnet werden. Hierfür wurden die von PATCHMASTER ermittelten Werte für R_S und C_M verwendet und in Formel 5.2 eingesetzt. Danach wurden die Daten durch das Ergebnis für die

5. Messungen mit Zellen

jeweilige Frequenz dividiert. Darüber hinaus wurden vom Skript auch die Transkonduktanz g_m , die Verstärkung des Impedanzwandlers sowie ein Skalierungsfaktor von 0,1 im Patch-Verstärker berücksichtigt und mit den Ergebnissen verrechnet.

Zur Ermittlung der Zeitkonstanten wurden die so korrigierten Daten schließlich mit der *Methode der kleinsten Quadrate* an den Ausdruck für $|H_J(\omega)|$ gefittet. Hierfür wurde der Betrag von Gleichung 5.3 gebildet und so umgeformt, dass die Zeitkonstante τ der einzige Parameter ist:

$$|H_J(f)| = \frac{1}{\sqrt{1 + \frac{1}{(2\pi f\tau)^2}}} \quad (5.5)$$

Einfluss von Vereinfachungen und Messfehlern

Im Ausdruck für $H_M(\omega)$ (s. Gleichung 5.1) musste der Term, der den gesuchten Abdichtwiderstand R_J enthält, vernachlässigt werden, um obigen Algorithmus anzuwenden. Dadurch entstand ein Fehler, der für manche Kombinationen der Parameter R_J , C_{JM} , C_{FM} und R_S signifikante Auswirkungen auf das Gesamtergebnis hat.

Abbildung 5.13 zeigt links den Betrag der Übertragungsfunktion $H_M(\omega)$ bei hohen Frequenzen mit (violette Kurve) und ohne die Näherung. R_J nimmt die Werte 0,5 M Ω (grün), 1,0 M Ω (blau) und 2 M Ω (rot) an, und es sind $C_{JM} = 5$ pF, $C_{FM} = 10$ pF und $R_S = 30$ M Ω . Man sieht, dass die genäherte Kurve immer kleiner ist, als die exakten Kurven. Der relative Fehler (rechter Teil der Abbildung) wächst mit steigendem Abdichtwiderstand. Das bedeutet, dass die berechnete Transferfunktion $H_J(\omega)$ bei hohen Frequenzen insbesondere für gut abdichtende Zellen zu große Werte annimmt. Dadurch entstehen tendenziell zu große Schätzwerte für R_J .

Bei der obigen Überlegung wurde davon ausgegangen, dass C_{JM} und C_{FM} exakt bekannt sind. Sie werden aber aus einem Schätzwert der gesamten Membrankapazität C_M berechnet, den die Software des Patch-Verstärkers bestimmt. Dazu wird der kapazitive Strom gemessen, der fließt, wenn an der Pipette eine sprungförmige Veränderung der Spannung vorgenommen wird [105]. Kapazitive Ströme fallen in einem solchen Fall exponentiell ab. Treten bei dieser Transiente mehrere Zeitkonstanten auf, wird nur die kürzeste von ihnen berücksichtigt. Auch wenn dieses Verfahren allgemein akzeptiert ist, führt es dazu, dass bei einer Zelle, die sich auf einem Substrat befindet, der Beitrag der adhären Membran C_{JM} unzureichend in die Schätzung von C_M eingeht. Das liegt daran, dass die Stromtransiente

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

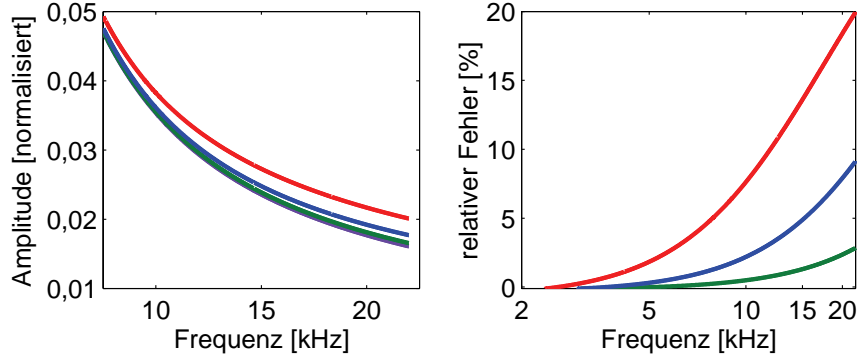


Abbildung 5.13.: Links: Betrag der Transferfunktion $H_M(f)$. Die violette Kurve zeigt die Näherung, bei der der Einfluss von R_J vernachlässigt wird. Die exakten Kurven wurden für $R_J = 0,5 \text{ M}\Omega$ (grün), $1,0 \text{ M}\Omega$ (blau) und $2 \text{ M}\Omega$ (rot) unter Verwendung der Parameter $C_{JM} = 5 \text{ pF}$, $C_{FM} = 10 \text{ pF}$ und $R_S = 30 \text{ M}\Omega$ berechnet. Rechts: Relativer Fehler durch die Näherung.

im Spalt wegen der Reihenschaltung von R_J eine höhere Zeitkonstante hat, als die freie Membran. Bildet man den Grenzwert von Gleichung 5.1 für hohe Frequenzen, wird augenscheinlich, dass das Ergebnis dann nur noch von C_{FM} abhängt:

$$H_M(\omega \rightarrow \infty) \approx \frac{1}{R_S \left(j\omega C_{FM} + \frac{1}{R_J} \right)} \approx \frac{1}{j\omega R_S C_{FM}} \quad (5.6)$$

Dies ist gewissermaßen der umgekehrte Effekt, wie bei der Näherung für $H_M(\omega)$, so dass sich beide Fehler zumindest teilweise aufheben. Allerdings benutzt das Programm PATCHMASTER für die Berechnung von C_M einen iterativen Algorithmus, so dass kein analytischer Ausdruck existiert, mit dem eine Abschätzung des Gesamtfehlers möglich wäre. Für die weitere Auswertung heißt das, dass nur der tatsächlich bekannte Fehler durch die Näherung berücksichtigt werden kann.

Im letzten Schritt der Auswertung wird der Abdichtwiderstand R_J aus dem gefitteten Wert von τ durch Division mit C_{JM} berechnet. Obiger Schätzwert für C_M wird auch verwendet, um C_{JM} zu berechnen. Geht man, wie Pabst et al., davon aus, dass die Zelle die Form einer Halbkugel hat, so ist die Fläche der adhärennten Membran und dementsprechend die Kapazität C_{JM} ein Drittel der Gesamtfläche

5. Messungen mit Zellen

beziehungsweise -kapazität [56]. Um Vergleichbarkeit mit dieser Publikation herzustellen, wird R_J einmal ohne Korrektur für die Näherungen mit diesem Wert bestimmt, da auch in dieser Publikation keine Fehlerrechnung erwähnt wurde. Außerdem wird eine „pessimistische“ Abschätzung ($R_{J,min}$) durchgeführt: Beim Fit ermittelt MATLAB die Grenzen eines 95%-Konfidenzintervalls. Dieses gibt den Bereich an, in dem τ mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % liegt. R_J wird berechnet, indem der untere Wert des Intervalls von τ durch $\frac{2}{5}C_M$ dividiert wird. So wird berücksichtigt, dass die Zelle flacher als kugelförmig ist [56]. Schließlich wird vom so erhaltenen Wert der Fehler bei der Berechnung von $H_M(\omega)$ bei der höchsten Frequenz abgezogen. Damit ist ausgeschlossen, dass ungewollt eine Verfälschung der Ergebnisse zu höheren Werten von R_J auftritt.

5.3.6. Ergebnisse der Kopplungsmessungen

Insgesamt konnten 22 Messungen erfolgreich abgeschlossen werden. Um den Einfluss der Geometrie auf die Kopplung zu untersuchen, wurden Chips mit unterschiedlichen Layouts verwendet (s. Abschnitt 5.3.3). Im Folgenden wird zunächst für jede dieser Varianten ein Ergebnis ausführlich dargestellt. Danach wird ein Überblick über alle Messungen gegeben und anhand dessen diskutiert, welche Schlussfolgerungen für die Zell-Nanowire-Kopplung gezogen werden können.

Drei exemplarische Fälle

Abbildung 5.14 illustriert das Ergebnis für einen Transistor mit sechs parallelen NWs, die eine Sollbreite von 500 nm und eine Länge von $3\text{ }\mu\text{m}$ hatten (Typ6k). Links ist die aus der gemessenen Übertragungsfunktion berechnete Funktion $H_J(f)$ (blau) und einen Fit gemäß Gleichung 5.5 (rot) gezeigt. Rechts ist die Zelle (gestrichelte Umrandung) auf dem Transistor abgebildet. Außerdem ist rechts schemenhaft die Patch-Pipette zu erkennen. Bei dem Experiment handelt es sich um das zweite aus Tabelle 5.1.

Die gefittete Kurve bildet mit $\tau = 10\text{ }\mu\text{s}$ den Verlauf der Transferfunktion insgesamt gut nach. Insbesondere bei den niedrigen Frequenzen ist die Übereinstimmung nahezu perfekt. Im Bereich um 1 kHz liegt der Fit ein wenig höher, als die Messung, und beim letzten Messwert ein wenig darunter. Das kleine Konfidenzintervall für τ von $9,7\text{ }\mu\text{s}$ bis $11\text{ }\mu\text{s}$ spiegelt die hohe Qualität des Fits wider. Es ergibt

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

sich schließlich ein Abdichtwiderstand R_J von $0,48 \text{ M}\Omega$ beziehungsweise $R_{J,min}$ von $0,38 \text{ M}\Omega$ bei der pessimistischen Abschätzung. Der erste Wert wurde auch bei planaren Transistoren erreicht oder überschritten [56, 106]. Das heißt, die NWs haben in dieser Konfiguration keinen Vorteil, obwohl sie im gezeigten Fall von der Zelle ausgesprochen gut bedeckt waren.

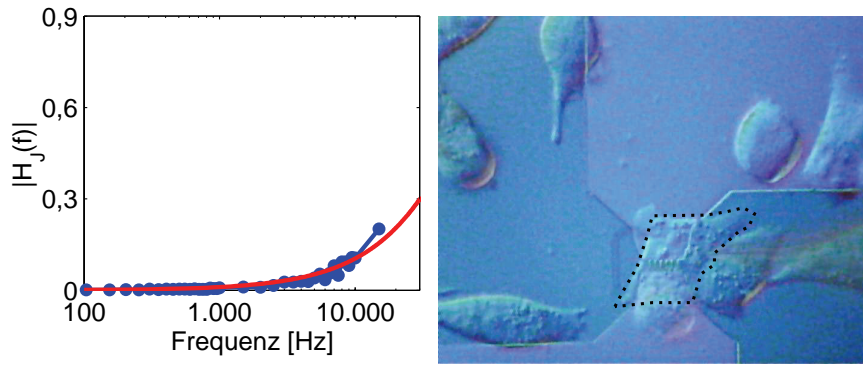


Abbildung 5.14.: Korrigierte Übertragungsfunktion $H_J(f)$ eines Transistors vom Typ6k und eine lichtmikroskopische Aufnahme der entsprechenden Zelle (gestrichelte Umrandung). Die aus der Messung errechnete Kurve ist blau dargestellt, der Fit ist rot. Die vollständigen Daten zu diesem Experiment befinden sich in Tabelle 5.1 unter Nummer 2.

Analog zur vorangegangenen Darstellung veranschaulicht Abbildung 5.15 eine Messung mit einem Transistor bestehend aus einem einzelnen NW der Sollbreite 250 nm und Länge von $3 \mu\text{m}$ (Typ1k). Dieses Experiment entspricht Nummer 14 aus Tabelle 5.1. Die Transferfunktion $H_J(f)$ hat einen ähnlichen Verlauf, wie beim letzten Fall. Dementsprechend liefert der Fit für τ einen Wert von $8,2 \mu\text{s}$, der in der Nähe des oben ermittelten Werts liegt. Das Konfidenzintervall reicht von $7,4 \mu\text{s}$ bis $9,0 \mu\text{s}$. Das heißt, auch hier kann von einer außerordentlich guten Schätzung gesprochen werden. Da die Membrankapazität hier kleiner ist, ergibt die Berechnung einen Wert von $R_J = 0,44 \text{ M}\Omega$ beziehungsweise, pessimistisch geschätzt, $R_{J,min} = 0,33 \text{ M}\Omega$. Die Kopplung ist folglich minimal schlechter, so dass diese Geometrie keinen Vorteil verspricht.

5. Messungen mit Zellen

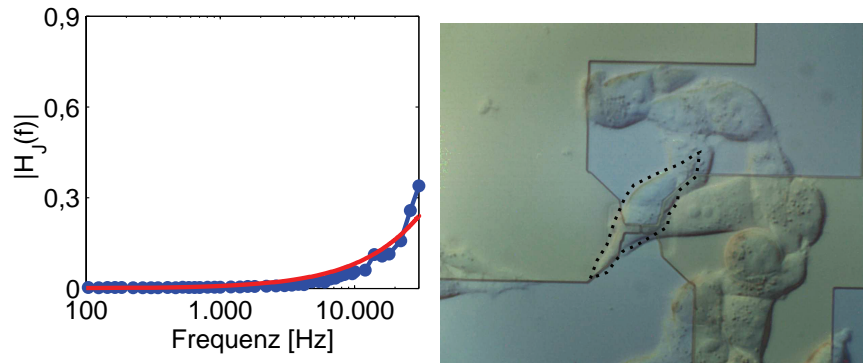


Abbildung 5.15.: Korrigierte Übertragungsfunktion $H_J(f)$ eines Transistors vom Typ1k und eine lichtmikroskopische Aufnahme der entsprechenden Zelle (gestrichelte Umrandung). Die aus der Messung errechnete Kurve ist blau dargestellt, der Fit ist rot. Die vollständigen Daten zu diesem Experiment befinden sich in Tabelle 5.1 unter Nummer 14.

Abbildung 5.16 zeigt das Ergebnis für ein einzelnes NW mit einer Länge von $40\text{ }\mu\text{m}$ und einer Sollbreite von 400 nm (Typ11). Dieses Experiment hat in Tabelle 5.1 die Nummer 22. Man erkennt, dass die berechnete Transferfunktion hier mit Abstand den höchsten Wert der drei gezeigten Fälle erreicht. Daher wurde für τ ein Wert von $37\text{ }\mu\text{s}$ (Konfidenzintervall von $33\text{ }\mu\text{s}$ bis $41\text{ }\mu\text{s}$) ermittelt, der die anderen deutlich übersteigt, was zu $R_J = 2,4\text{ M}\Omega$ beziehungsweise $R_{J,min} = 1,6\text{ M}\Omega$ führt. Damit ergibt selbst die pessimistische Abschätzung einen Abdichtwiderstand, der deutlich größer ist, als bei den obigen Messungen und bei planaren Transistoren. Der Unterschied ist so deutlich, dass auch die dichte Besiedelung des Chips mit Zellen, die möglicherweise zu einem höheren Widerstand beigetragen hat, nicht als Erklärung ausreicht. Die bessere Kopplung ist auch auf die Geometrie des NW-Transistors zurückzuführen.

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

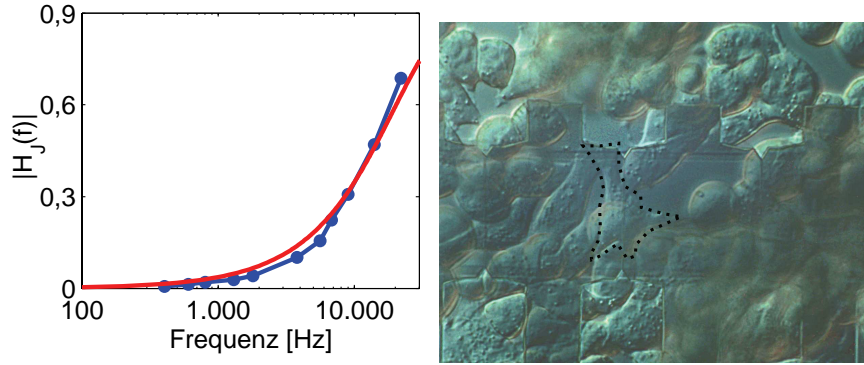


Abbildung 5.16.: Korrigierte Übertragungsfunktion $H_J(f)$ eines Transistors vom Typ11 und eine lichtmikroskopische Aufnahme der entsprechenden Zelle (gestrichelte Umrandung). Die aus der Messung errechnete Kurve ist blau dargestellt, der Fit ist rot. Die vollständigen Daten zu diesem Experiment befinden sich in Tabelle 5.1 unter Nummer 22.

Eine Gemeinsamkeit bei allen drei Beispielen besteht darin, dass die Messpunkte bei den hohen Frequenzen immer über der gefitteten Kurve liegen. Dies konnte bei allen Experimenten beobachtet werden und ist auf die Näherung bei der Berechnung von $H_M(\omega)$ zurückzuführen (s. Abschnitt 5.3.5). Damit ist dieses Verhalten nicht überraschend und kann sogar als Bestätigung der Theorie angesehen werden. Der Fehler wird bei der Berechnung von $R_{J,min}$ mit berücksichtigt, so dass eine Verfälschung dadurch ausgeschlossen ist.

Alle Ergebnisse im Überblick

Die exemplarischen Fälle im letzten Abschnitt geben Anhaltspunkte dafür, dass bei der Zell-NW-Kopplung die Geometrie der Sensoren eine große Rolle spielt. Ferner lässt sich ein höherer Abdichtwiderstand, als bei planaren Transistoren erzielen. In Tabelle 5.1 sind nun alle Ergebnisse aufgelistet, um diese Beobachtungen auf eine breitere Basis zu stellen. Jede Zeile enthält neben der laufenden Nummer die Transkonduktanz im Arbeitspunkt g_m , den Serienwiderstand der Pipette R_S , die Membrankapazität C_M der jeweiligen Zelle, den gefitteten Wert für τ mit dem 95%-Konfidenzintervall in Klammern, sowie die beiden Schätzwerte für den Abdichtwiderstand R_J bzw. $R_{J,min}$ (s. Abschnitt 5.3.5). Die Daten unterschiedlicher

5. Messungen mit Zellen

Chips sind durch horizontale Linien voneinander getrennt, und die einzelnen Chipvarianten durch farbliche Markierungen kenntlich gemacht: Rot steht Typ6k, und Blau für Typ1k. Da anhand der Messungen keine Unterschiede bei den $20\,\mu\text{m}$ und $40\,\mu\text{m}$ langen, einzelnen NWs festgestellt wurden (Typ1l), werden diese zusammen behandelt. Die entsprechenden Angaben sind grün hinterlegt. Aufgrund der kleinen Ströme wurde hier ein Rückkoppelwiderstand R_f von $50\,\text{k}\Omega$ verwendet. Dies wurde bei der Auswertung entsprechend berücksichtigt und hat keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

Anhand dieser Daten lässt sich zeigen, dass die meisten Ergebnisse aussagekräftig sind. Man stellt aber auch fest, dass Messung 10 und 21 in Bezug auf R_J aus ihrer jeweiligen Gruppe herausragen. Betrachtet man die zugehörigen Konfidenzintervalle, wird deutlich, dass der Fit in diesen beiden Fällen eine ausgesprochen hohe Unsicherheit aufweist. Schon während der Experimente wurde vermerkt, dass der Serienwiderstand R_S schwankte und evtl. der Kontakt zur Zelle verloren gegangen war. Weil die Beobachtung nicht eindeutig war, wurden die Messungen zunächst nicht verworfen. Aufgrund der Fits ist es aber gerechtfertigt, diese Messungen im Weiteren nicht zu berücksichtigen.

Bei den verbleibenden Ergebnissen werden nun die Größe des Konfidenzintervalls von τ in Relation zu den gefitteten Werten selbst gesetzt. Im Mittel aller Messungen beträgt die prozentuale Abweichung nach unten 13 % und nach oben 14 %. Dabei weisen die Messungen mit Chips vom Typ6k mit 9 % beziehungsweise 11 % die geringsten Werte auf. Bei den Chips von Typ1l ist die Abweichung hingegen mit 20 % beziehungsweise 21 % am größten. Das bedeutet, dass die Fits bei den langen NWs am unzuverlässigsten sind. Dies liegt daran, dass hier weniger Messpunkte vorlagen: Die kleineren Ströme machten größere Zeitkonstanten am LI-Verstärker nötig, um weiterhin ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis zu gewährleisten. Dementsprechend konnten in der Zeit, in der R_S stabil war, weniger Frequenzen gesampelt werden. Weil bei der Berechnung von $R_{J,min}$ immer der untere Wert des Konfidenzintervalls verwendet wird, geht diese Abschätzung zu Ungunsten von Typ1l.

Zur Veranschaulichung sind die ermittelten Abdichtwiderstände in Abbildung 5.17 illustriert. Die farbliche Hervorhebung ist die gleiche, wie in der Tabelle. R_J und $R_{J,min}$ sind als Punkte bzw. als Quadrate dargestellt. Die Sterne (*) kennzeichnen die Ergebnisse, die aufgrund von Problemen während des Experiments zu

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

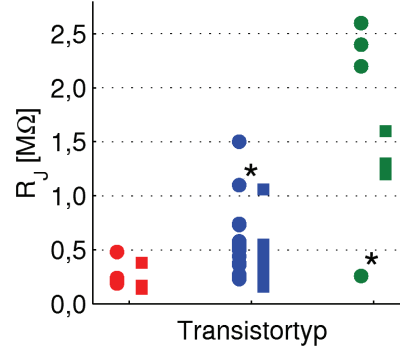


Abbildung 5.17.: Berechnete Abdichtwiderstände für die unterschiedlichen NW-Geometrien. Entsprechend Tabelle 5.1 sind die Ergebnisse von Typ6k rot, die von Typ1k blau und die von Typ1l grün dargestellt. Die Werte von R_J und $R_{J,min}$ sind mit Punkten bzw. Quadraten markiert.

unzuverlässigen Fits geführt haben und nachträglich verworfen wurden. Die Grafik zeigt, dass es trotz der Streuung der Werte für beide Schätzungen signifikante Unterschiede zwischen den Chipgeometrien gibt. Die Chips vom Typ6k weisen im Mittel einen etwas geringeren Abdichtwiderstand auf ($\bar{R}_J = 0,28 \text{ M}\Omega$ bzw. $\bar{R}_{J,min} = 0,21 \text{ M}\Omega$), als Typ1k ($\bar{R}_J = 0,55 \text{ M}\Omega$ bzw. $\bar{R}_{J,min} = 0,39 \text{ M}\Omega$). Allerdings überlappen die Ergebnisse, so dass kein eindeutiger Vorteil gegeben ist. Bei den NWs vom Typ1l liegen die Dinge anders: Es gibt, abgesehen von den fragwürdigen Werten, keine Überschneidung mit den anderen Varianten. Die gemittelten Abdichtwiderstände betragen $\bar{R}_J = 2,4 \text{ M}\Omega$ und $\bar{R}_{J,min} = 1,3 \text{ M}\Omega$. Nach der Berücksichtigung der durch die Näherung verursachten Fehler ist der Mittelwert noch 3,45 mal so groß wie bei Typ1k. In der Literatur wurden für planare Transistoren Werte von $0,3 \text{ M}\Omega < R_J < 0,6 \text{ M}\Omega$ angegeben. Das heißt, dass die Transistoren mit den langen NWs auch hier (basierend auf $\bar{R}_{J,min}$) zu einer Verbesserung von 120 % bis 330 % führen, während die kurzen NWs eine ähnliche Qualität der Kopplung aufweisen.

5. Messungen mit Zellen

#	g_m [μS]	R_S [$\text{M}\Omega$]	C_M [pF]	τ [μs]	R_J [$\text{M}\Omega$]	$R_{J,min}$ [$\text{M}\Omega$]
1	27	22	13	5,8 (5,2-6,4)	0,21	0,16
2	25	15	10	10 (9,7-11)	0,48	0,38
3	31	23	17	8,5 (7,3-9,4)	0,24	0,17
4	24	26	6,9	2,7 (2,5-3,0)	0,19	0,14
5	7,5	60	19	21 (18-24)	0,52	0,36
6	6,0	75	7,1	11 (9,1-13)	0,74	0,50
7	20	28	13	10 (8,0-12)	0,36	0,24
8	7,3	38	8,8	5,0 (3,9-6,1)	0,27	0,18
9	6,5	16	15	7,3 (6,0-8,6)	0,23	0,16
10	3,5	19	8,0	19 (10-20)	1,1	-
11	7,2	26	9,8	12 (11-13)	0,58	0,44
12	7,8	28	20	11 (9,6-12)	0,26	0,19
13	7,6	35	8,9	14 (13-15)	0,73	0,55
14	8,0	60	8,9	8,2 (7,4-9,0)	0,44	0,33
15	9,1	60	12	9,4 (8,0-11)	0,38	0,27
16	6,5	60	9,3	30 (27-34)	1,5	1,06
17	8,8	41	11	12 (11-13)	0,50	0,38
18	8,9	60	9,6	11 (10-12)	0,55	0,41
19	0,90	50	12	55 (43-68)	2,2	1,2
20	0,90	55	12	65 (47-83)	2,6	1,3
21	0,25	60	29	16 (8,0-23)	0,26	-
22	0,55	38	7,3	37 (33-41)	2,4	1,6

Tabelle 5.1.: Parameter und gefittete Ergebnisse der Transferfunktionsmessungen. Experimente mit Transistoren vom Typ6k sind rot, diejenigen mit Typ1k blau und die mit Typ1l grün hinterlegt. Die horizontalen Linien trennen die Werte, die mit unterschiedlichen Chips erhalten wurden.

5.3.7. Elektronenmikroskopische Untersuchung

Fixieren der Zellen auf den Proben

Um den Kontakt zwischen den Zellen und den NWs elektronenmikroskopisch untersuchen zu können, mussten die Zellen auf den Chips fixiert werden. Hierfür wurden unverkapselte Chips verwendet. Das Kultivieren der Zellen erfolgte in einer 24-Well Zellkulturschale mit jeweils einem Chip pro Kammer. Ansonsten wurden die gleichen Bedingungen gewählt, wie bei den Transferfunktionsmessungen (s. Abschnitt 5.3.3), um die nötige Vergleichbarkeit sicherzustellen.

Nach zwei Tagen in Kultur wurden die Zellen mit einer 3,5%-igen Lösung aus Glutaraldehyd in 20 mM HEPES fixiert. Das vollständige Protokoll befindet sich in Anhang C.4.4. Von insgesamt 20 Chips wurden diejenigen ausgewählt, bei denen die Zellmorphologie am besten mit der bei den elektrischen Kopplungsmessungen übereinstimmte und sich genügend Zellen auf den Transistoren befanden.

Diese Chips wurden mit einer ungefähr 8 nm dicken Schicht aus Platin besputtert und anschließend mit dem *Rasterelektronenmikroskop (REM)* untersucht. Eine repräsentative Auswahl der Bilder befindet sich im nächsten Abschnitt. Von diesen Proben wurden wiederum diejenigen selektiert, bei denen die Zellen gut und möglichst mittig auf den Nanodrähten adhäriert waren. Mit einem *fokussierten Ionenstrahl* (engl. *focused ion beam, FIB*) wurden hiervon Querschnitte angefertigt, so dass der Kontaktbereich zwischen den Zellen und den NWs freigelegt wurde. Danach wurden erneut Aufnahmen mit dem REM gemacht, die ab Seite 120 gezeigt werden.

Bilder der Zellen in der Draufsicht

Im Folgenden sind Zellen auf Nanodrähten mit unterschiedlicher Länge ($3\ \mu\text{m}$, $20\ \mu\text{m}$ und $40\ \mu\text{m}$) gezeigt. Alle Bilder wurden mit einem REM (ZEISS Gemini 1550) unter einem Winkel von 60° aufgenommen. Die Beschleunigungsspannung betrug jeweils 20 kV, und es wurde der In-Lens Detektor verwendet. In den Aufnahmen sind relevante Bereiche mit Pfeilen unterschiedlicher Farbe gekennzeichnet: Besonders große Abstände zum Substrat, durch die Leckleitfähigkeiten entstehen, sind rot, Adhäsionspunkte an den Zuleitungen blau, und die NWs, falls sichtbar, lila markiert.

Die ersten beiden Bilder (Abbildung 5.18) zeigen Zellen auf $3\ \mu\text{m}$ langen Dräh-

5. Messungen mit Zellen

ten. Es konnte häufig beobachtet werden, dass die Zellen bei diesen Strukturen dazu neigten, besonders an den Kanten der Zuleitungen zu adhären (rechtes Bild, blaue Pfeile). Außerdem ist im Bereich der NWs ein größerer Abstand vom Substrat (beide Bilder, rote Pfeile) deutlich zu erkennen. Dies legt die Vermutung nahe, dass sich die Zellen gleichsam wie ein Zeltdach über die Vertiefung von ungefähr 200 nm - 300 nm legen. Die Konsequenzen für die elektrische Kopplung werden in der Diskussion besprochen.

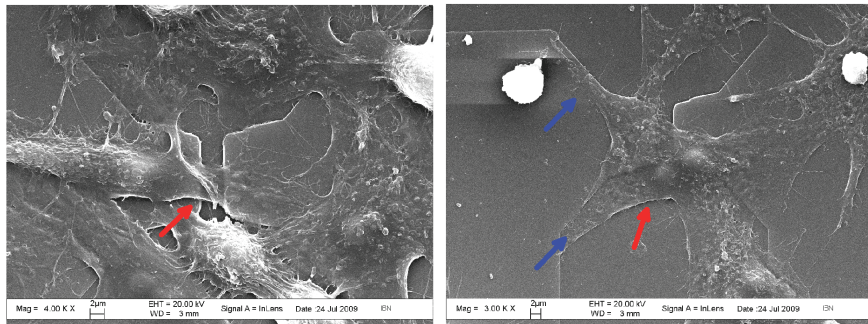


Abbildung 5.18.: HEK Zellen auf Transistoren vom Typ1k. Die Bilder wurden mit einem REM unter einem Winkel von 60° aufgenommen.

In den nächsten beiden Bildpaaren (Abbildungen 5.19) sind zwei Zellen auf NWs mit einer Länge von 20 μm dargestellt. Es konnte meistens einer von zwei Fällen beobachtet werden: Entweder hatten die Zellen nur einen Ausläufer, der mit dem NW in Kontakt war (oben), oder der komplette Zellkörper befand sich auf dem NW (unten). Beide Varianten waren ungefähr gleich häufig. Weniger oft kam es vor, dass Zellen quer zu den NWs gewachsen waren. Man konnte in allen Fällen erkennen, dass die Zellen sich auch bei den 20 μm langen NWs an den Zuleitungen „verankern“. Das führte allerdings hier nicht dazu, dass ein sichtbarer Spalt entstand. Die Zellen neigten aber dazu, sich an die NWs anzuschmiegen (lila Pfeile), statt mittig darauf zu adhären. Da dieses Verhalten ebenfalls den Abdichtwiderstand verringert, beeinträchtigt auch es die Qualität der Kopplung.

Bei den 40 μm langen Drähten (s. Abbildung 5.20), gab es grundsätzlich eine große Ähnlichkeit zu den 20 μm langen NWs. Allerdings konnten Zellen gefunden werden, die sich wesentlich flacher auf die NWs gelegt hatten. Es ist aber anhand der geringen Anzahl von Bildern und elektrischen Messungen nicht möglich, zu

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

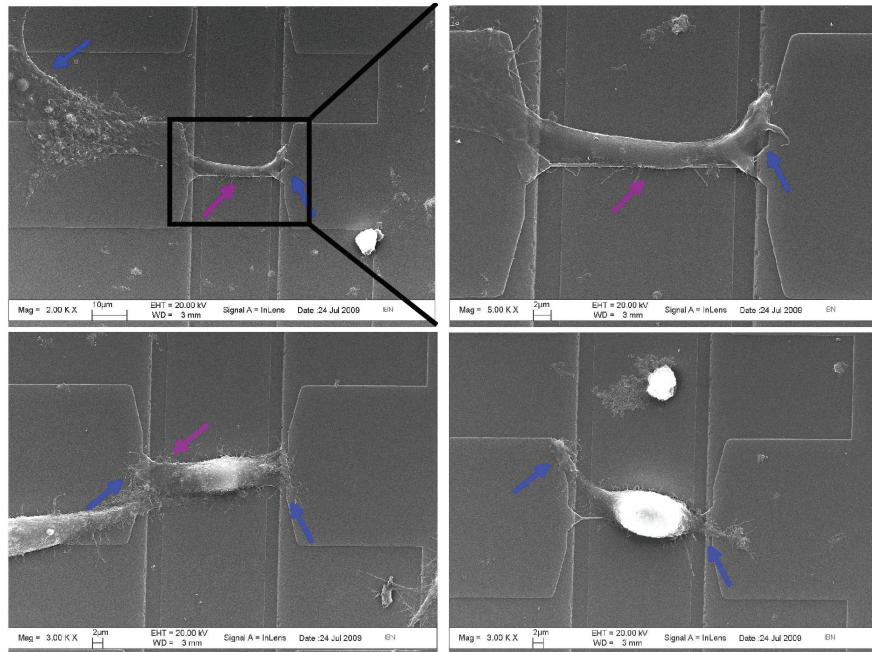


Abbildung 5.19.: HEK Zellen auf Transistoren vom Typ11 mit einer Länge der NWs von $20\text{ }\mu\text{m}$. Rechts oben ist ein Ausschnitt vom linken oberen Bild zu sehen. Die Aufnahmen wurden mit einem REM unter einem Winkel von 60° gemacht.

beurteilen, ob diese Morphologie bei dieser Geometrie tatsächlich häufiger auftritt, und was sie für die elektrische Kopplung bedeutet. Ist nur ein schmaler Ausläufer in engem Kontakt mit dem NW (s. grüner Pfeil im Bild rechts), ist davon keine große Verbesserung zu erwarten.

5. Messungen mit Zellen

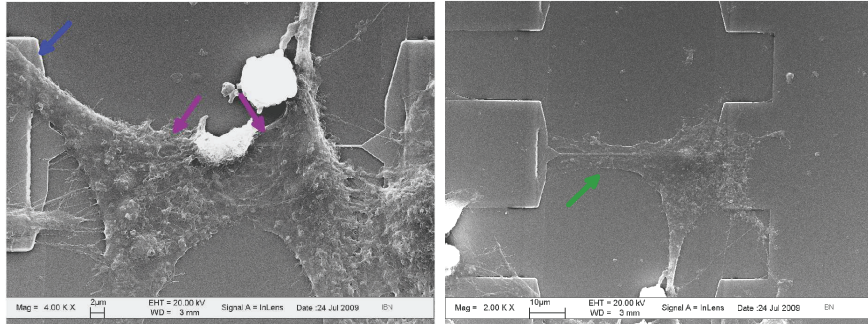


Abbildung 5.20.: HEK Zellen auf Transistoren vom Typ11 mit einer Länge der NWs von $40\text{ }\mu\text{m}$. Die Bilder wurden mit einem REM unter einem Winkel von 60° aufgenommen. Der grüne Pfeil zeigt einen Ausläufer, der äußerst flach auf dem Substrat adhärert ist.

Focused Ion Beam-Präparationen

Um die Kontaktfläche zwischen den Zellen und den NWs noch besser charakterisieren zu können, wurden mit einem fokussierten Ionenstrahl Gräben in einige Zellen geschnitten, so dass das Interface für eine Untersuchung mit dem REM zugänglich wurde. Die Ergebnisse der Präparationen sind in den nachfolgenden Abbildungen dargestellt. Auch hier wurden einzelne Stellen mit Pfeilen markiert, wobei die Farben analog zu obigen Abbildungen verwendet wurden.

In Abbildung 5.21 ist eine Zelle auf einem NW mit Länge $3\text{ }\mu\text{m}$ bei unterschiedlicher Vergrößerung gezeigt. Der Nanodraht mit annähernd dreieckigem Querschnitt (lila Pfeil) ist deutlich zu erkennen. Allerdings müsste dieser entsprechend der Bilder, die nach dem Prozess gemacht wurden (s. Abschnitt 3.5), frei schweben. Da dies offensichtlich nicht der Fall ist, muss der Draht bei der Fixierung, vermutlich aufgrund von mechanischen Spannungen, gebrochen sein. Daher ist eine Aussage zur Kopplung an dieser Stelle nicht möglich. Im linken Bild lässt sich aber gut erkennen, dass die Zelle an der Stufe zwischen Zuleitung und BOX eine Art Überhang bildet (roter Pfeil), der die elektrische Kopplung verschlechtert.

Die NWs vom Typ11 haben aufgrund ihrer größeren Breite (circa 300 nm) und der geringeren Unterätzung die Fixierung unbeschadet überstanden. Da kein grundsätzlicher Unterschied zwischen den $20\text{ }\mu\text{m}$ - und der $40\text{ }\mu\text{m}$ -Drähten erkennbar war, werden beide Fälle hier gemeinsam behandelt. Abbildung 5.22 stellt oben eine Zel-

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

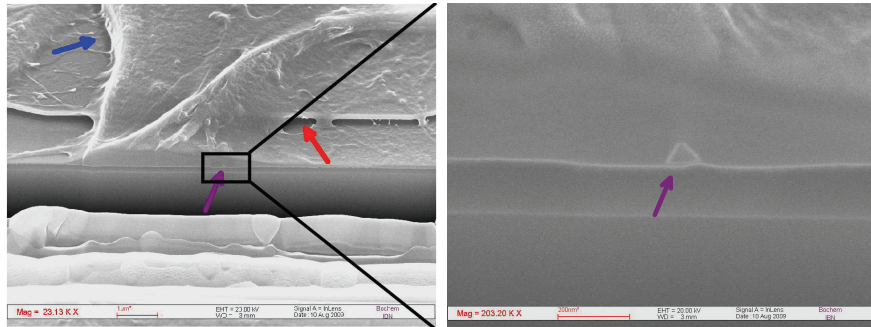


Abbildung 5.21.: Querschnitt durch eine HEK Zelle auf einem NW-Chip vom Typ1k. Das rechte Bild zeigt einen vergrößerten Ausschnitt des linken. Es ist gut zu erkennen, dass das NW nicht frei schwebt sondern offenbar abgebrochen ist und direkt auf dem BOX liegt.

le in Großaufnahme (links) und im Detail (rechts) dar. Darunter sind zwei weitere Detailaufnahmen zu sehen, die die Reproduzierbarkeit des Ergebnisses zeigen. Die Nanodrähte (lila Pfeil) sind jeweils nur schemenhaft an ihrem etwas helleren Rand zu erkennen. Darunter befindet sich jeweils das dunklere vergrabene Oxid der SOI-Wafer. Man sieht gut, dass die NWs ungefähr 50 nm weit unterätzt sind, und die Zellen dieser Stufe nicht perfekt folgen. Statt dessen haben sich dort bis zu 200 nm große Kanäle gebildet, die Leckleitfähigkeiten bilden. Da sich diese nur in der Umgebung der Nanodrähte finden lassen, ist es unwahrscheinlich, dass es sich um Artefakte der Fixierung handelt.

Damit geben die FIB-Präparationen weitere Anhaltspunkte für die Geometrieabhängigkeit der Zell-Nanowire-Kopplung. Wenn die NWs zu kurz sind, können die Zellen der entstehenden Topologie nur unzureichend gut folgen, so dass große Bereiche entstehen, in denen der Kontakt zum Substrat verloren geht. Dies ist bei den längeren NWs nur in der unmittelbaren Umgebung dieser der Fall. Deshalb können bei solchen Chips größere Abdichtwiderstände beobachtet werden. Im nächsten Abschnitt folgt nun die abschließende Diskussion der Ergebnisse.

5. Messungen mit Zellen

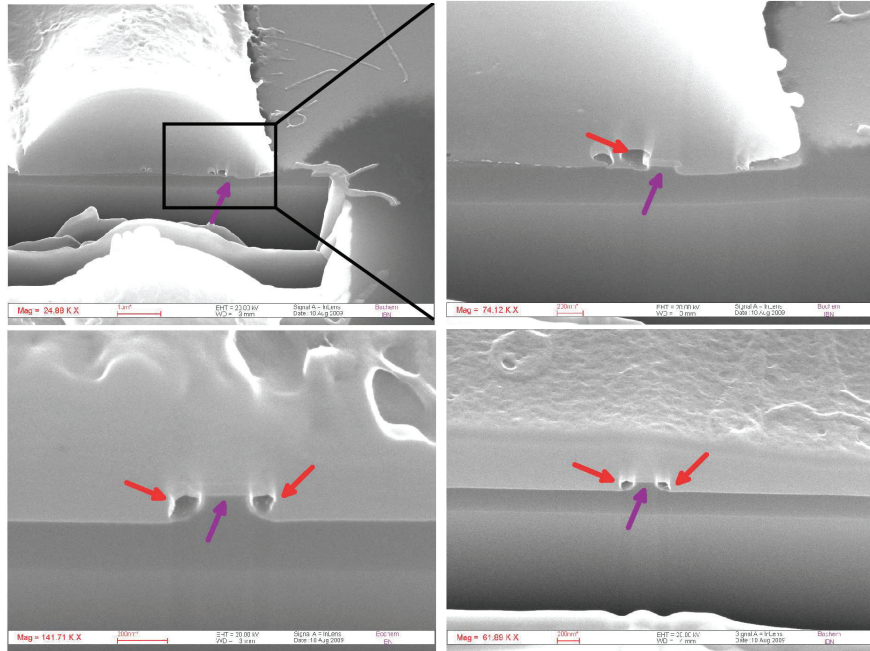


Abbildung 5.22.: Querschnitte durch HEK Zellen auf NW-Chips vom Typ11. Rechts oben ist eine Vergrößerung des linken oberen Bilds gezeigt. Die unteren Aufnahmen sind mit anderen Chips entstanden. Es lassen sich jeweils schemenhaft die leicht helleren Umrisse der NWs (violette Pfeile) erkennen.

5.3.8. Diskussion

Elektrische Messungen

Mit Hilfe von Transferfunktionsmessungen konnte die Zell-Transistor-Kopplung für NW-Transistoren quantitativ untersucht werden. Es waren einige Korrekturen nötig, um diese Analyse zu ermöglichen. Obwohl die theoretischen Kurven mit den korrigierten gut übereinstimmen, führten diese zu einem systematischer Fehler dahingehend, dass die gefitteten Verläufe bei hohen Frequenzen unter den errechneten Werten lagen. Das bedeutet, die Messung wurde dort zu stark nach oben korrigiert. Die Ursache dieses Fehlers wurde beseitigt (s. Abschnitt 5.3.5), was zu einer zuverlässigen Abschätzung des Abdichtwiderstands R_J nach unten führte.

5.3. Untersuchung der Zell-Nanowire-Kopplung mit HEK Zellen

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die Nanodrähte den planaren Transistoren nicht grundsätzlich überlegen sind. Es gibt eine signifikante Abhängigkeit von R_J als entscheidendem Parameter vom Layout der Chips. Im ungünstigsten Fall wurden Werte ermittelt, die unter denen von klassischen EISFETs lagen. Nur die NWs mit einer Länge von $20\text{ }\mu\text{m}$ bzw. $40\text{ }\mu\text{m}$ wiesen eine deutlich bessere Kopplung auf. Sie sollten sich daher grundsätzlich sehr gut für die Ableitung extrazellulärer Signale eignen. Aufgrund der hohen Zuleitungswiderstände bei der gegenwärtigen Prozessführung, bricht die Transkonduktanz allerdings bereits bei Frequenzen unter 1 kHz stark ein (s. Abbildung 5.12). Dieses Problem müsste erst noch behoben werden, bevor schnelle Aktionspotentiale von Neuronen mit Spektralanteilen bis zu einigen kHz, gemessen werden könnten.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Im Wesentlichen haben die REM-Aufnahmen die Ergebnisse der elektrischen Messungen bestätigt. Es konnte zwar nicht im Querschnitt untersucht werden, wie der Kontakt zwischen den Zellen und $3\text{ }\mu\text{m}$ langen Nanodrähten aussieht, aber auch in der Draufsicht, wurde deutlich, dass die breiten Zuleitungen ein Umschließen der NWs verhindern. Die Stufe zwischen dem Silicium und dem BOX führt dazu, dass die Zellen den Kontakt zum Substrat verlieren, so dass an dieser Stelle Leckleitfähigkeiten in der Größenordnung von einigen μS entstehen, die die elektrische Kopplung erheblich verschlechtern.

Bei den NWs mit $20\text{ }\mu\text{m}$ und $40\text{ }\mu\text{m}$ Länge zeigten die Querschnitte, dass sich die Zellen der Nanostruktur anpassen und besser auf der Oberfläche adhärieren. Lediglich die Unterätzung der NWs führt dazu, dass sich bis zu ca. 200 nm breite Kanäle bilden. Ein einzelner solcher Kanal hat bei einer Zelle mit Durchmesser $10\text{ }\mu\text{m}$ von deren Mitte aus eine Länge von $5\text{ }\mu\text{m}$. Nimmt man einen rechteckigen Querschnitt an, ergibt sich für einen Leitwert des Elektrolyts von 15 mS/cm ein Widerstand von $83\text{ M}\Omega$. Damit ist dieser über eine Größenordnung höher, als die gemessenen Werte von R_J , und spielt kaum eine Rolle.

Ein gravierenderes Problem stellt die Tatsache dar, dass die Zellen nur selten mit dem kompletten Zellkörper auf den NWs zu liegen kommen. Oft sind sie größtenteils neben den NWs oder bilden schmale Ausläufer, die den Kontakt zu diesen herstellen. Dies verringert den Abdichtwiderstand deutlich und führt zu kleineren elektrischen Signalen. Abhilfe könnte eine Strukturierung der Proteinbeschichtung

schaffen [107, 108], so dass die Zellen nur im Bereich der Nanodrähte gut auf der Oberfläche adhäreren können.

5.4. Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die Kopplung von Zellen zu NW-Transistoren beschrieben. Die Untersuchung wurde auf zwei Arten durchgeführt: Zum einen wurden Aktionspotentiale von HL-1 Zellen extrazellulär abgeleitet. Die Auslese der Signale durch direktes Abtasten, statt der bisher häufig verwendeten Lock-In-Technik, verhinderte Verfälschungen, so dass die Signalkomponenten den zugrundeliegenden physiologischen Prozessen zugeordnet werden konnten. Da die Experimente mit konfluenten Schichten der HL-1 Zellen durchgeführt wurden, war es möglich, die Ausbreitung der Zellsignale über den Chip zu verfolgen. Dies ist das erste Mal, dass dies mit zweidimensionalen Arrays von NW-Transistoren gelang. Darüber hinaus wurde bestätigt, dass sich die Bauelemente bezüglich ihres Rauschens für die extrazelluläre Ableitung von Zellsignalen gut eignen. Sie waren in dieser Hinsicht planaren Transistoren deutlich überlegen.

Transferfunktionsmessungen an HEK Zellen erlaubten es, die einzelnen Parameter der Signalübertragung von der Patch-Pipette zum Transistor zu quantifizieren. Hierfür wurden ein spezieller Messaufbau und ein Auswerteverfahren entwickelt. In Testmessungen wurden die einzelnen Beiträge zur Übertragungsfunktion ermittelt und ein Algorithmus entwickelt, um den Abdichtwiderstand R_J zu bestimmen. Dieser Wert ist der entscheidende Parameter für die Güte der Zell-NW-Kopplung und diente als Kriterium für den Vergleich von drei unterschiedlichen Transistorgeometrien: Der erste Typ hatte sechs parallele NWs mit einer Länge von $3\,\mu\text{m}$, der zweite Typ ein NW mit der gleichen Länge und der dritte Typ schließlich ein NW mit $20\,\mu\text{m}$ beziehungsweise $40\,\mu\text{m}$ Länge. Die beste Kopplung konnte bei der letzten Variante beobachtet werden. REM-Aufnahmen und FIB-Präparationen bestätigten den Eindruck, dass sich die Zellen bei den kurzen NWs nicht in engem Kontakt mit diesen befanden und es so zu keiner guten Kopplung kam. Die längeren NWs waren hingegen gut von den Zellen bedeckt.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die NW-Transistoren planaren Bauelementen überlegen sein **können**. Es kommt aber sehr auf das Layout der aktiven Bereiche an, ob sich diese Vorteile tatsächlich einstellen. Von den hier untersuch-

5.4. Zusammenfassung

ten Bauelementen sind die Transistoren mit den längeren NWs am besten geeignet, um eine gute Kopplung zu erzielen. Um sie jedoch für die extrazelluläre Ableitung neuronaler Aktionspotentiale zu verwenden, müssten die Widerstände der Zuleitungen zunächst reduziert werden, da andernfalls hochfrequente Signalanteile nicht übertragen werden. Das Rauschverhalten dieser längeren Transistoren wurde nicht charakterisiert. Dem McWorther-Modell (s. Abschnitt 4.3.2) zufolge sind hier weitere Vorteile zu erwarten.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Wer sich nicht mehr wundern und in Ehrfurcht verlieren kann, der ist seelisch bereits tot.

(Albert Einstein, deutscher Physiker, 1879 - 1955)

6.1. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Silicium Nanodrähte (NWs) in einem selbst entwickelten Verfahren hergestellt. Sie wurden dann elektrisch charakterisiert und schließlich auf ihre Eignung für die Detektion elektrischer Zellaktivität untersucht. Im Folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse aus diesen drei Teilbereichen zusammengefasst.

Mit einem neuen Herstellungsverfahren sollte auf eine reproduzierbare Art eine große Anzahl von Chips mit NW-Transistoren produziert werden. Es bot sich an, die Nanoimprintlithografie (NIL) für die Strukturierung einzusetzen, da sie die gestellten Anforderungen am besten erfüllte. Ohne eine aufwendige Optimierung wurde eine Auflösung von bis zu etwa 100 nm erzielt. Es konnten ganze 100 mm Wafer in einem Schritt sehr gleichmäßig strukturiert werden. Diese wurden mit reaktivem Ionenätzen in eine dünne Oxidschicht auf der Waferoberfläche übertragen. Auf diese Weise wurde eine Hartmaske erhalten. Die NWs selbst wurden in einem nasschemischen Ätzschritt mit Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) hergestellt. Das vergrabene Oxid der verwendeten Silicon-On-Insulator Wafer fungierte dabei als Ätzstop. Nach der Ätzung blieben in der oberen Siliciumschicht nur die Nanodrähte, sowie die Zuleitungen übrig. Aufgrund der niedrigen Ausgangsdotierung wurden die Zuleitungen mit Bor implantiert, um ihren Widerstand zu verringern. Im nächsten Schritt wurde auf den Wafern eine Schicht aus LPVCD-Oxid

6. Zusammenfassung und Ausblick

als Passivierung abgeschieden. Sie wurde im Bereich der NW-Transistoren mit optischer Lithografie und einer Flusssäure-Ätzung geöffnet. Hierauf wurde das Gate-Dielektrikum durch thermische Trockenoxidation bei 820 °C gewachsen. Schließlich wurden Metallkontakte mit dem Lift-Off-Verfahren strukturiert.

Diese Kombination von NIL und TMAH-Ätzung wurde letztendlich erfolgreich etabliert und in mehreren Prozessdurchläufen für die Herstellung von zweidimensionalen NW-Arrays eingesetzt. Es wurden verschiedene Layouts erprobt: Einerseits wurden Chips mit 4x4 Transistoren unterschiedlicher Breite hergestellt, bei denen sich alle Leiterbahnen in einer Ebene befanden. Darüber hinaus wurden Arrays mit gekreuzten Zuleitungen und 16x16 beziehungsweise 32x32 Transistoren erhalten. Die gekreuzten Zuleitungen machten gegenüber der oben dargestellten Prozessführung eine zusätzliche Passivierungsschicht und deren Öffnung nötig. Diese Chips wurden nur als Prototyp für weitere Entwicklungen hergestellt und nicht für Messungen verwendet. Die Ätzung mit TMAH gewährleistete jeweils defektarme Oberflächen, die zu den guten elektrischen Eigenschaften der Transistoren beitrugen, die nun beschrieben werden.

Die elektrische Charakterisierung der NW-Transistoren zeigte zunächst, dass sich die Bauelemente hinsichtlich ihrer Ausgangskennlinie wie klassische Langkanaltransistoren verhalten. Da Kurzkanaleffekte bei der Verwendung als Sensor unerwünscht sind, war dies eine erste, positive Feststellung. Die Untersuchung der Transferkennlinie ergab, dass die Transistoren ausgesprochen empfindlich auf Änderungen des Oberflächenpotentials reagierten und in dieser Beziehung planaren Transistoren überlegen waren. Auch beim Rauschen ließen sich Vorteile feststellen: Das gatebezogene Rauschen hatte im günstigsten Fall einen RMS Wert von $34 \mu\text{S}$, was einer Senkung um 60 % entspricht. Durch die Messung beziehungsweise Berechnung der einzelnen Beiträge wurden 1/f-Rauschen und Drift als die dominanten Anteile identifiziert. Eine detaillierte Analyse der Arbeitspunktabhängigkeit zeigte, dass das McWorther-Modell den 1/f-Anteil am besten beschrieb, so dass anhand dieses Modells Empfehlungen für den künftigen Entwurf von NW-Transistoren für Zellmessungen abgeleitet werden konnten. Demnach wirkt sich eine größere Kanallänge positiv bemerkbar auf das Signal-Rausch-Verhältnis aus. Die quantitative Auswertung der Messungen mit diesem Modell bestätigte ferner, dass die Prozessierung mit TMAH zu einem defektarmen Gate-Oxid geführt hatte.

Schließlich wurden die NW-Transistoren erfolgreich in Experimenten mit Zellen

eingesetzt. Einerseits gelang es, Aktionspotentiale von HL-1 Zellen extrazellulär abzuleiten. Die Signale wurden bewusst, im Gegensatz zu einigen Berichten in der Literatur, nicht mit einem Lock-In Verstärker gemessen. Statt dessen wurde der Transistorstrom, nach Umwandlung in eine Spannung, verstärkt und ohne Filterung abgetastet. Dadurch wurde die Signalform kaum verfälscht, und es zeigte sich eine exzellente Übereinstimmung mit Messungen von planaren Transistoren. So ließ sich der Verlauf des extrazellulären Potentials den zugrundeliegenden physiologischen Vorgängen zuordnen. Andererseits wurden Transferfunktionsmessungen mit HEK Zellen durchgeführt. Hierfür wurde ein Messaufbau entwickelt. Mit einem aufwendigen Auswerteverfahren wurde so der Abdichtwiderstand der Zellen bestimmt. Dieser für die Zell-Transistor-Kopplung entscheidende Parameter wurde für unterschiedliche Sensorgeometrien verglichen. Es stellte sich heraus, dass längere NWs gegenüber kürzeren und auch planaren Transistoren signifikante Vorteile besaßen. Der mittlere Abdichtwiderstand war für diese langen NWs stets mindestens doppelt so hoch, wie bei anderen den Varianten. Damit eignen sich diese Bauelemente grundsätzlich wesentlich besser für die Ableitung extrazellulärer Potentiale. In der gegenwärtigen Ausführung ist ihre Bandbreite aufgrund der zu hohen Zuleitungswiderstände allerdings zu gering.

Zusätzlich zu den elektrischen Messungen wurden Zellen auf den NWs fixiert und mit dem Rasterelektronenmikroskop untersucht. Bilder unter einem Winkel von 60° bestätigten, dass die Zuleitungen bei den kurzen, $3\text{ }\mu\text{m}$ langen NWs einen engen Kontakt der Zellen zum Substrat in weiten Bereichen verhinderten. Da dies bei den längeren NWs nicht der Fall war, konnten hier höhere Abdichtwiderstände gemessen werden. Darüber hinaus zeigten Aufnahmen von Querschnitten, die mit einem Fokussierten Ionenstrahl hergestellt wurden, dass die Zellen der NW-Oberfläche folgten. Durch die Unterätzung war der Kontakt zum Substrat zwar unterbrochen, und es bildeten sich dünne Kanäle. Diese beeinträchtigten aber aufgrund ihres hohen elektrischen Widerstands die Kopplung kaum.

Mit diesen Ergebnissen lassen sich die Beobachtungen von Patolsky et al. [29], die ja ein Vorbild für diese Arbeit waren, erheblich besser verstehen. Die Verwendung von Silicium NWs führt tatsächlich zu einer besseren Zell-Transistor-Kopplung und erklärt die größeren Amplituden. Die mit der Theorie inkonsistenten Signalformen lassen sich u.a. auf die Verwendung der LI-Technik zurückführen. Hier wurde der Zusammenhang zwischen physiologischer Ursache und extrazellulärer Ableitung

6. Zusammenfassung und Ausblick

deutlich besser sichtbar.

6.2. Ausblick

Es konnten im Rahmen dieser Arbeit viele Fragen geklärt werden. Auf der anderen Seite sind neue entstanden, und es wurden Anhaltspunkte für Verbesserungen gefunden. Eine Reihe von technologischen Maßnahmen, wie beispielsweise ein optimiertes Reinigungsprotokoll vor dem Wachsen des Gate-Oxids, eine Reduktion der Zuleitungswiderstände oder Gate-Dielektrika mit hoher Dielektrizitätskonstante würden die NW-Transistoren noch leistungsstärker machen. Eine höhere Integrationsdichte würde das Experimentieren mit kleinen neuronalen Netzwerken ermöglichen.

Darüber hinaus sollte der Einfluss der Sensorgeometrie genauer untersucht werden. Bislang wurden $3\text{ }\mu\text{m}$, $20\text{ }\mu\text{m}$ und $40\text{ }\mu\text{m}$ lange NWs verwendet. Durch eine feinere Abstufung könnte die optimale Länge ermittelt werden. Ein weiterer wichtiger Parameter in diesem Zusammenhang ist die Topologie des gesamten aktiven Bereichs. Einerseits können Strukturen auf der Oberfläche dazu dienen, die Adhärenz der Zellen zu steuern und verbessern. Auf der anderen Seite ist es möglich, dass Zellen ihre Membran komplett über stark unterätzte, freischwebende NWs stützen, so dass deutlich höhere Abdichtwiderstände erreicht werden könnten.

Weitere Entwicklungen müssten auch darauf abzielen, dass diese Bauelemente wesentlich preiswerter herzustellen. Nur so ließen sich Massenanwendungen beispielsweise in der klinischen Diagnostik erschließen. NW-Transistoren könnten aufgrund ihrer höheren Empfindlichkeit eingesetzt werden, um in der Pharmaforschung bei der Erprobung neuer Wirkstoffe kleinere physiologische Veränderungen und geringere Mengen an Stoffwechselprodukten zu detektieren. Solche Tests wären zuverlässiger und mit kleinerem Aufwand durchzuführen, als die heute üblichen, so dass die Entwicklung neuer Medikamente kosteneffizienter und sicherer würde. In ferner Zukunft ist darüber hinaus denkbar, dass NWs in implantierbare Systeme integriert werden. Aufgrund der Tatsache, dass Zellen in der Lage sind guten Kontakt zu den NWs herzustellen oder sie zu inkorporieren könnten Abstoßungsreaktionen vermieden werden. Dadurch könnten Anwendungen in der Neuroprothetik realisiert werden, die weit über die heutigen Möglichkeiten herausreichen.

Silicium Nanodrähte bieten demnach ein großes Potential für neue biomedizini-

6.2. Ausblick

sche Systeme, und es bleibt spannend, wie sich dieses Feld in den nächsten Jahren weiter entwickeln wird.

Anhang

A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess

A.1. Vorbemerkungen

In Kapitel 3 wurde die Herstellung der Nanowire-Chips beschrieben. Um an dieser Stelle die Übersichtlichkeit zu erhöhen, wurde darauf verzichtet, alle Prozessabschnitte im Detail zu beschreiben und auf sämtliche Parameter einzugehen. In diesem Teil des Anhangs wird dies nun nachgeholt. Dabei sind alle Prozessabschnitte inklusive der Herstellung der Abdruckform und der Verkapselung in einer gesonderten Tabelle dargestellt. Sich wiederholende Schritte und Rezepte können ganz am Ende dieses Kapitels nachgeschlagen werden (s. Seite 139). Bei Schritten, deren Prozesszeit variieren kann, ist ein Richtwert angegeben und mit * gekennzeichnet. Die entsprechende Zeit wurde in diesem Fall jeweils anhand von Testsubstraten ermittelt. Die Abkürzung „RT“ schließlich steht für Raumtemperatur.

A.2. Herstellung des Molds

Das für die Nanoimprintlithografie 3.2.2 erforderliche Mold wurde mit Elektronenstrahlolithografie geschrieben. Um die Zeit hierfür kurz zu halten, wurden nur die Nanostrukturen mit einer Strahlweite von 5 nm geschrieben. Zuleitungen und andere größere Strukturen wurden mit einer Strahlweite von 50 nm geschrieben. Die Dosis betrug jeweils $250 \mu\text{C}/\text{cm}^2$. Da Nanodrähte und entsprechende Übergänge zu den Zuleitungen direkt benachbart waren, kam es zum sogenannten *Proximity Effekt*. Hierfür wurde keine auf physikalischer Modellierung der Rückstreuvorgänge bei der Belichtung basierende Korrektur vorgenommen, sondern die alle Strukturen wurden auf jeder Seite 30 nm schmaler geschrieben, als der Sollwert.

A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess

Die weiteren Schritte mit allen erforderlichen Parametern sind in Tabelle A.1 zusammengestellt. Theoretisch wäre es möglich gewesen, die Strukturen direkt in einem Silicium-Wafer zu erzeugen. Allerdings erleichterte die Verwendung eines thermischen Oxids die genaue Kontrolle über deren Tiefe. Da der Lack und das Siliciumdioxid fast gleich schnell im CHF_3 -Plasma geätzt wurden, sind 200 nm Strukturtiefe die Obergrenze.

Im letzten Schritt wurde das Mold mit einer einatomaren Lage aus *Perfluorooctyltrichlorosilan* (FOTCS) beschichtet, um das Ablösen vom Substrat zu Erleichtern. FOCTS ist chemisch verwandt mit Teflon und wirkt wie eine Antihafbeschichtung.

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
M1	Piranha Reinigung	RCA1 (Tabelle A.7)
M2	Oxid für Strukturen	<i>therm. Oxid.</i> : nass, 200 nm
M3	Elektr.strahlolithografie	<i>Lack</i> : AR-P 669 (PMMA 600k) <i>Aufschleudern</i> : 4000 U/min <i>Backen</i> : 2 min bei 180 °C <i>Belichtung</i> : Dosis: 250 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ <i>Entwicklung</i> : AR 600-55, 75 s mit Megasonic; <i>Stop</i> : Isopropanol
M4a	Entfernen des Lackschleiers	<i>RIE</i> O_2 , 3 s
M4b	Ätzen der Strukturen	<i>RIE</i> CHF_3 , 9 min*
M4c	Entfernen des Lacks	<i>RIE</i> O_2 , 50 s*
M5	Silanisierung	<i>Oberflächenaktiv.</i> : O_2 -Plasma, 30 s, 200 W, 1,5 mbar <i>Bedampfung</i> : FOTCS gesättigte Ar_2 -Atmosphäre, 1 h, 45 mbar, RT [109]

Tabelle A.1.: Schritte für die Herstellung des Molds.

A.3. Prozessabschnitte und Parameter der Einzelschritte

Die hier gezeigten Prozessabschnitte ergeben den Gesamtprozess für die Herstellung der NW-Chips, wie im Hauptteil in Tabelle 3.4 dargestellt. Reinstwasserspülungen wurden jeweils mindestens bis zum Erreichen eines spezifischen Widerstands von $10\text{ M}\Omega\text{cm}$ oder für mindestens zehn Minuten durchgeführt. Schritt D2a (s. Tabelle A.3) wurde nur beim vierten und letzten Prozessdurchlauf eingeschoben. Für eine Erläuterung sei auf Abschnitt 3.3.2 verwiesen.

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
B1	Nanoimprint	s. Abschnitt 3.2.2
B2	Entfernen des Residual Layers	<i>RIE</i> O_2 , 1 min*
B3	Ätzen des Oxids	<i>RIE</i> CHF_3 , 5 min*
B4	Entlacken	<i>RIE</i> O_2 , 1 min*

Tabelle A.2.: Prozessabschnitt B: Schritte für das Strukturieren der Hartmaske.

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
D1	Piranha Reinigung	RCA1 (Tabelle A.7)
D2a	Schutzoxid	<i>therm. Oxid.</i> : trocken, 820°C
D2b	Oxidmaske für Implantation	<i>LPCVD</i> : TEOS, Dicke: 50 nm
D3	Lithografie	AZ 5214
D4	Ätzen der Oxidmaske	<i>RIE</i> CHF_3 , 3 min*
D5	Implantation	Bor, 7 keV, Dosis s. Text
D6	Entlacken	<i>RIE</i> O_2 , 8 min*
D7	Piranha Reinigung	RCA1 (Tabelle A.7)
D8	Tempern	<i>Oxidationsofen</i> : N_2 -Atmosphäre, 30 min, 900°C

Tabelle A.3.: Prozessabschnitt D: Schritte für die Implantation der Zuleitungen.

Die Implantationsdosis wurde vom dritten zum vierten Prozessdurchlauf bzw. vom ersten zum zweiten Design erhöht, um den Widerstand der Zuleitungen zu reduzieren. Die Dosis vor der Erhöhung betrug $1 \cdot 10^{14}\text{ cm}^{-2}$. Danach wurde mit

A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess

$5 \cdot 10^{14} \text{ cm}^{-2}$ implantiert.

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
E1	Piranha Reinigung	RCA1 (Tabelle A.7)
E2	Abscheiden der Passivierung	<i>LPCVD</i> : TEOS, 920 °C, Dicke s. Text
E3	Lithografie für Öffnung der aktiven Bereiche	AZ 5214
E4	Ätzen der Passivierung	HF 1 % (v/v), 10 min*, Reinstwassersp.

Tabelle A.4.: Prozessabschnitt E: Schritte für das Wachsen und Öffnen der Passivierung.

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
F1	Piranha Reinigung	RCA1 (Tabelle A.7)
F2	Flusssäure Tauchbad	1 % (v/v) HF, 10 s, RT
F3	Piranha Reinigung	RCA1 (Tabelle A.7, nur 5 Minuten)
F4	Gate-Oxidation	<i>therm. Oxid.</i> : trocken, 820 °C, Solldicke: 8 nm

Tabelle A.5.: Prozessabschnitt F: Schritte für die Erzeugung des Gate-Oxids.

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
G0a	Lithografie für Rückseitenkontakt	AZ 5214
G0b	Ätzen durch BOX	<i>AF91</i> : 10 min, Reinstwassersp.
G1	Lithografie für Lift-Off	AZ 5214 (Umkehrprozess)
G2	Metall-Bedampfung	<i>Ebeam</i> : 150 nm Al, 10 nm Ti, 150 nm Au
G3	Lift-Off	Aceton mit Megasonic
G4	Tempern	<i>RTP</i> : N ₂ -Atmosphäre, 325 °C, 10 Minuten

Tabelle A.6.: Prozessabschnitt G: Schritte für die Herstellung der Metallisierung. Einen guten elektrischen Kontakt wurde garantiert, indem die Proben vor dem Aufdampfen des Metalls für 30 s bei 300 W mit Argon besputtert wurden, um natives Oxid zu entfernen.)

A.4. Standardrezepte

Im Folgenden finden sich die Parameter für Standardschritte, die in den obigen Prozessmodulen wiederholt vorkommen und daher an dieser Stelle zusammengefasst werden. Tabelle A.7 zeigt den Ablauf einer vollständigen RCA-Reinigung [110]. Nach jedem der dort aufgeführten Schritte erfolgt eine Reinstwasserspülung. Da das im dritten Schritt verwendete NH_4OH Silicium ätzen kann und dies in einem Testlauf zum Verlust der NWs geführt hatte, wurde in der Regel nur der erste Schritt durchgeführt (s. Abschnitt 3.3.2). Allerdings sollte insbesondere vor der Gate-Oxidation eine äußerst gründliche Reinigung der Substrate erfolgen. Entsprechende Alternativen werden in der Diskussion am Ende von Kapitel 3 aufgezeigt (s. Seite 64).

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
RCA1	Piranha Reinigung	$\text{H}_2\text{O}_2 : \text{H}_2\text{SO}_4 = 2:1$, 60 °C, 10 min
RCA2	Flusssäure Tauchbad 1	1 % (v/v) HF, Raumtemperatur, 10 s
RCA3	Standard Clean 1	$\text{H}_2\text{O} : \text{H}_2\text{O}_2 : \text{NH}_4\text{OH} = 20:4:1$, 60 °C, 10 min
RCA4	Flusssäure Tauchbad 2	1 % (v/v) HF, Raumtemperatur, 10 s
RCA5	Standard Clean 2	$\text{H}_2\text{O} : \text{H}_2\text{O}_2 : \text{HCl} = 20:1:1$, 60 °C, 10 min

Tabelle A.7.: Schritte für die RCA-Reinigung.

Für die optische Lithografie wurde in dieser Arbeit stets der Lack AZ 5214 verwendet. Seine Vorteile sind, dass er sowohl für Positiv-Masken, als auch für Negativ-Masken verwendet werden kann und beständig gegen Flusssäure und Ammoniumfluorid (AF91) ist. Damit eignet er sich insbesondere auch gut für die Strukturierung von Metallschichten mittels *Lift-Off*. In diesem Fall sind ein zweites Backen und eine Flutbelichtung erforderlich, die sonst entfallen. Für längere nasschemische Ätzungen und bei der Implantation ist ein vorheriges Härten des Lacks ratsam (s. letzter Schritt). Der Ablauf einer vollständigen Lithografie kann Tabelle A.8 entnommen werden.

A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess

Arbeitsschritt	Parameter
Haftvermittler	HMDS aus der Gasphase bei 100 °C
Aufschleudern	4000 U/min
Backen I	5 min bei 90 °C
Belichtung	Süss MA6, 4,5 s, 0,7 W/cm ²
(Backen II	90 s bei 115 °C
Flutbelichtung	20 s, 0,7 W/cm ²)
Entwicklung	MIF 326, 60 s
Entwicklungsstop	Reinstwasserspülung
(Härten	2 min bei 130 °C)

Tabelle A.8.: Schritte und Parameter für die optische Lithografie mit dem Lack AZ 5214.

Rezept	Parameter
RIE CHF ₃	200 W, 30 sccm, 0,02 mbar
RIE O ₂	200 W, 20 sccm, 0,03 mbar

Tabelle A.9.: Programme für das reaktive Ionenätzen (RIE).

Trockenchemische Ätzschritte wurden immer mit RIE durchgeführt. Dabei stand ein Programm mit CHF₃-Plasma für das Ätzen von SiO₂ zur Verfügung. Für Lack oder andere organische Substanzen wurde O₂-Plasma verwendet. Die Prozessparameter für beide Programme befinden sich in Tabelle A.9.

A.5. Verkapselung

A.5.1. Drahtbonden

Nach dem eigentlichen Prozess im Reinraum wurden die Wafer zunächst mit einem Schutzlack (AZ 5214) versehen, und die Chips mit einer Wafersäge vereinzelt. Da ein Entfernen des gehärteten Lacks mit Hilfe von Ultraschall nicht infrage kam, wurden die Chips danach über Nacht in Aceton eingeweicht. Dies hatte die gewünschte Reinigungswirkung. Anschließend folgte die Verkapselung für die Zell-

kultur. Es kamen zwei Methoden zur Anwendung. Chips des ersten Designs, wie sie für die Messungen mit HL-1 Zellen verwendet wurden (s. Abschnitt 5.2), wurden *drahtgebondet* und mit Silikon (Sylgard® 182 und 96-083, DOW CORNING) vergossen. Dieses Verfahren wurde bereits von Offenhäusser et al. beschrieben [97]. Es wurden hier allerdings andere Keramikträger (PB-C86640, KYOCERA) benutzt. Tabelle A.10 enthält alle Details zu dieser Form der Verkapselung.

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
H.B1a	Aufkleben der Chips auf Träger	Silberkleber (H20E-PFC)
H.B1b	Aushärten des Klebers	150°C, 20 min
H.B2	Drahtbonden	-
H.B3a	Aufkleben der Trichter und Glasringe	Silikonkleber 96-083
H.B3b	Aushärten des Silikons	150°C, 20 min
H.B4a	Auffüllen des Zwischenraums	Silikonkleber 96-083
H.B4b	Aushärten des Silikons	150°C, 90 min

Tabelle A.10.: Schritte für das Verkapseln von drahtgebondeten Chips.

A.5.2. Flip-Chip Verfahren

Für die Verkapselung einer großen Anzahl von Chips, wie sie beispielsweise für die Rauschmessungen (s. Abschnitt 4.3.2) und die Transferfunktionsmessungen (s. Abschnitt 5.3) benötigt wurden, wurde auf das *Flip-Chip* Verfahren zurückgegriffen [111]. Der Ablauf bei dieser Methode ist schematisch in Abbildung A.1 illustriert und in Tabelle A.11 zusammengefasst.

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
H.F1a	Aufbringen des Leitklebers	Siebdruck von Silberkleber (H20E-PFC)
H.F1b	Justieren der Chips	Fine-Placer
H.F1c	Aushärten des Klebers	150°C, 20 min
H.F2a	Auftragen des Underfill	Medical Epoxy (302-3M)
H.F2b	Aushärten des Epoxy	90°C, 60 min
H.F3a	Aufkleben der Trichter und Glasringe	Medical Epoxy (302-3M)
H.F3b	Aushärten des Epoxy	90°C, 60 min

Tabelle A.11.: Schritte für das Verkapseln von Chips mit dem Flip-Chip Verfahren.

A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess

#	Arbeitsschritt	Methode bzw. Parameter
H.F4a	Auffüllen des Zwischenraums	Medical Epoxy (302-3M)
H.F4b	Aushärten des Epoxy	90°C, 60 min

Tabelle A.11.: Schritte für das Verkapseln von Chips mit dem Flip-Chip Verfahren.
(Fortsetzung)

Für diese Form der Verkapselung wurden speziell gefertigte Träger aus *PCB*-Material (engl. *printed circuit board*) verwendet. Abbildung A.2 links zeigt diesen (Beschriftung: d) neben den anderen Bestandteilen Chip (a), Trichter (b), Glasring (c) und einer 1Cent-Münze (e) zur Verdeutlichung der Größenverhältnisse. Der rechte Teil des Bilds zeigt, wie die Anordnung der Teile im Endzustand (ohne Verklebung).

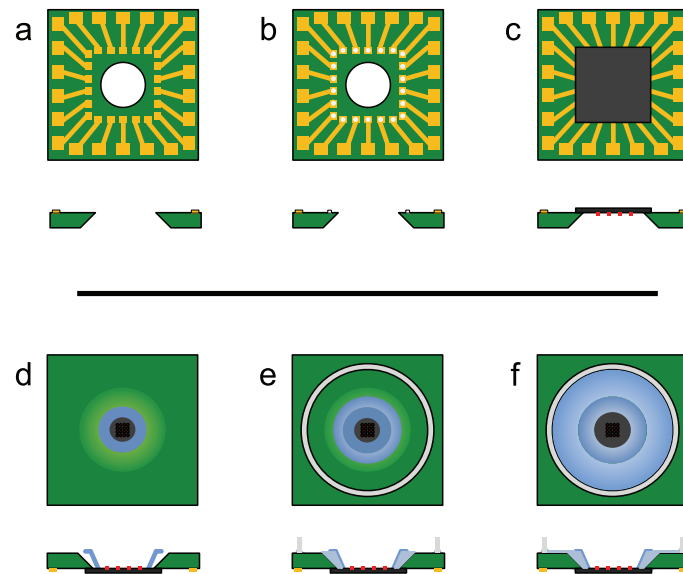


Abbildung A.1.: Ablauf der Verkapselung mit dem Flip-Chip Verfahren. Die Schritte in der oberen Reihe sind von der Rückseite, die in der unteren von der Vorderseite gezeigt. Der gereinigte Carrier (a) wird mit Siebdruck an den Kontaktflächen mit Silberkleber versehen (b). Danach wird der Chip mit einem Fineplacer entsprechend darauf positioniert (c). Um ein Reservoir für die Zellkultur zu erhalten, werden ein Trichter (d) und ein Glasring (e) auf den Träger geklebt. Schließlich wird der Zwischenraum mit Epoxy gefüllt (f), damit toxische Substanzen, die vom Carrier abgegeben werden, nicht ausbluten und zu den Zellen gelangen können.

A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess

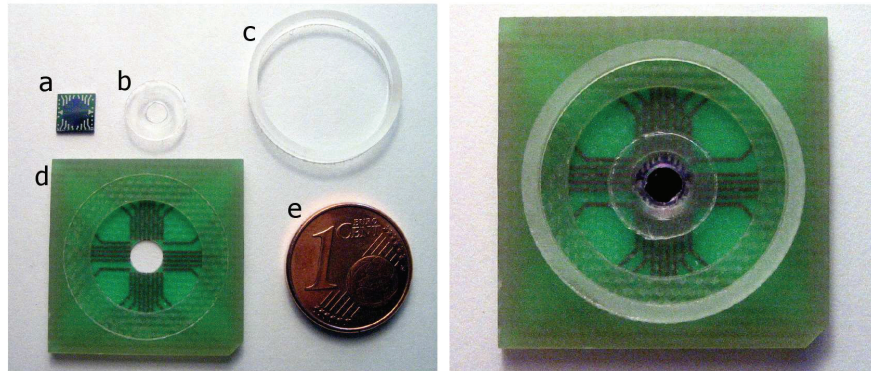


Abbildung A.2.: Abbildung der Einzelteile für die Flip-Chip Verkapselung. Links: Chip (a), Trichter (b), Glasring (c), Träger (d) und 1Cent-Münze (e) zur Verdeutlichung der Größenverhältnisse. Rechts: Anordnung der Teile am Ende der Verkapselung.

A.6. Quellcode der Prozesssimulation

Bei diesem Quellcode handelt es sich um eine Eingabedatei für die Prozesssimulationssoftware SENTAURUS PROCESS von SYNOPSYS. Er diente der Erzeugung der Querschnitte in Kapitel 3.

```
# Initialisierung
# -----

# Festlegen der Bereiche und der Auflösung in vertikaler Richtung
# Die obere Siliciumschicht ist hier bereits ausgedünnt
line x location = 0.0 spacing = 1<nm> tag=Surface
line x location = 100.0<nm>spacing = 1<nm> tag=Interface
line x location = 500<nm> spacing = 400<nm> tag=BOX
line x location = 1.0<um> spacing = 2.0<um> tag=Bottom

# Zuweisen der entsprechenden Materialien
region silicon xlo=Surface xhi=Interface ylo=Left yhi=Right
region oxide xlo=Interface xhi=BOX ylo=Left yhi=Right
region substrate silicon xlo=BOX xhi=Bottom ylo=Left yhi=Right

# Einstellen der Originaldotierung für das Silicium
init field = Boron concentration = 1e15

# Festlegen der Bereiche und der Auflösung in horizontaler Richtung
line y location = -0.0<um>spacing = 1<um> tag=Left
line y location = 180<nm> spacing = 4<nm>
line y location = 1.5<um>spacing = 1<um> tag=Right
```

A.6. Quellcode der Prozesssimulation

```
# Simulation
# -----

# Erzeugen der Hartmaske und Abscheiden des NIL-Lacks
deposit oxide type=isotropic thickness=20<nm>
diffuse temperature=900<C> time=40<min>
deposit resist type=isotropic thickness=200<nm>

# Festlegen der Maske für den Imprint
mask clear
mask name=imprint_mask left=-0.1 right=0.1

# Da NIL von der Software nicht unterstützt wird,
# wird die Struktur durch einen anisotropen Ätzschritt emuliert.
etch resist mask=imprint_mask type=anisotropic thickness=200.1<nm>

# Erzeugen der Grafik nach diesem Schritt
struct ise.mdraw=NW_2D_cross_resist_ISE

# Anisotropes Ätzen der Hartmaske und Entfernen des Resists
etch oxide type=anisotropic thickness=20.01<nm>
strip resist
# Erzeugen der Grafik nach diesem Schritt
struct ise.mdraw=NW_2D_cross_hardmask_ISE

# Anisotropes Ätzen Schritt I (vertikal, unvollständig)
# Nur eingefügt, um das anisotrope Ätzen mit zusätzlichen Zwischenschritt
# besser veranschaulichen zu können
etch silicon type=directional direction = { 1.41 1} rate = 1.8 time=0.04
# Erzeugen der Grafik nach diesem Schritt
struct ise.mdraw=NW_2D_cross_TMAH1_ISE

# Anisotropes Ätzen Schritt II (vertikal, vollständig)
etch silicon type=directional direction = { 1.41 1} rate = 1.8 time=0.04
# Erzeugen der Grafik nach diesem Schritt
struct ise.mdraw=NW_2D_cross_TMAH2_ISE

# Anisotropes Ätzen Schritt III (horizontal bzw. Unterätzung)
etch silicon type=directional direction = {0.0001 -1} rate = 0.020 time=4.
# Erzeugen der Grafik nach diesem Schritt
struct ise.mdraw=NW_2D_cross_TMAH3_ISE

# Entfernen der Hartmaske
etch material=oxide type=isotropic rate = 0.006 time=05.0
struct ise.mdraw=NW_2D_cross_HF_ISE

# Passivierung Wachsen
# Um die unterschiedlichen Eigenschaften von thermischem und
# LPCVD-Oxid zu berücksichtigen wurde letzteres als Nitrid emuliert
deposit nitride type=isotropic thickness=400<nm>

# Passivierung Öffnen
# Definition der Maske
mask name=passivierung_oeffnen left=-1 right=1 negative
```

A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess

```
etch nitride type=isotropic thickness=460<nm> mask=passivierung_oeffnen
# Erzeugen der Grafik nach diesem Schritt
struct ise.mdraw=NW_2D_cross_pass_ISE

# Thermische Oxidation für Gate-Dielektrikum
mgoals resolution=0.05
gas_flow name=O2 pressure=1<atm> flowO2=1.2<l/min>
diffuse temperature=820<C> time=25<min> gas_flow=O2

# Erzeugen der Grafik am Ende des Prozesses
struct ise.mdraw=NW_2D_cross_oxidation_ISE
```

A.7. Geräte, Hilfsmittel und Chemikalien

Tabelle A.12 enthält alle Geräte und sonstige Hilfsmittel, die bei der Fabrikation der Chips, der Verkapselung und der Prozesssimulation zum Einsatz kamen. In der rechten Spalte befindet sich eine Kurzbezeichnung des jeweiligen Herstellers. Alle Bezugsquellen sind in der folgenden Aufstellung noch einmal ausführlich zusammengefasst:

- B. BRAUN MELSUNGEN AG, Melsungen, Deutschland
- CARL ZEISS NTS GMBH, Oberkochen, Deutschland
- CENTROTERM THERMAL SOLUTIONS GMBH & CO. KG, Blaubeuren, Deutschland
- EATON CORP., Cleveland, OH, USA
- ESSEMTEC AG, Aesch, Schweiz
- FINETECH GMBH & CO. KG, Berlin, Deutschland
- HORIBA INC., Markenname: SOFIE INSTRUMENTS, Kyoto, Japan
- KYOCERA CORP., Kyoto, Japan
- LEICA MIKROSYSTEME GMBH, Wetzlar, Deutschland
- M. BRAUN INERTGAS-SYSTEME GMBH, Garching, Deutschland
- MEMBRANE SOLUTIONS LLC., Plano, TX, USA
- NANONEX CORP., Monmouth Junction, NJ, USA
- OXFORD INSTRUMENTS PLC, Abingdon, UK
- PFEIFFER VACUUM GMBH, Asslar, Deutschland
- PRIMA RESEARCH & TECHNOLOGIES PTE LTD., Singapur
- PURITAN MEDICAL PRODUCTS CO., Guilford, ME, USA
- SENTECH INSTRUMENTS GMBH, Berlin, Deutschland
- SONOSYS ULTRASCHALLSYSTEME GMBH, Neuenbürg, Deutschland

A.7. Geräte, Hilfsmittel und Chemikalien

- SÜSS MICROTEC AG, Garching, Deutschland
- SYNOPSYS INC., Mountain View, CA, USA
- TEMPRESS SYSTEMS B.V., Vaassen, Niederlande
- VEECO INSTRUMENTS INC., Plainview, NY, USA
- VWR INTERNATIONAL GMBH, Darmstadt, Deutschland
- WI-KA GMBH, Baesweiler, Deutschland

Art von Gerät/Hilfsmittel	Typ	Hersteller
Lithografie		
Belichter	MA6, 365 nm	Süss
Elektr.strahl Schreiber	EBPG 5HR	Leica
Nanoimprinter	NX-2000	Nanonex
Schichterzeugung		
Elektr.strahl Verdampfer	PLS 500	Pfeiffer
LPCVD Anlage	E1200 R&D	centrotherm
Oxidationsofen	-	Tempress
Charakterisierung		
Ellipsometer	SE400 Laser	SENTECH
	SE800 Spectral	SENTECH
Profilometer	Dektak 3030	Veeco
Rasterelektr.mikroskop	Gemini 1550	Zeiss
	Gemini 1550VP	Zeiss
Sonstige Geräte		
Fineplacer	Fineplacer 96	Finetech
Glovebox	MB200B	M. Braun
Ionenimplanter	NV 3204	Eaton
Laserinterferometer	SL50	SOFIE Instruments
Megaschall Gerät	-	SONOSYS
Reaktives Ionenätzen	-	Oxford Instruments
Siebdrucker	SP-002	Essemtec
Temperofen (RTP)	AET ADDAX RTP RM	PRIMA
Hilfsmittel		
Keramikcarrier	PB-C86640	Kyocera
PCB Carrier	-	WI-KA

Tabelle A.12.: Liste von Geräten und sonstigen Hilfsmitteln, die im Zusammenhang mit der Chipherstellung verwendet wurden.

A. Ergänzungen zum Fabrikationsprozess

Art von Gerät/Hilfsmittel	Typ	Hersteller
Schaumstoffstäbchen	1806-PFL	PURITAN
Spritzen	Inject 5 ml	B. Braun
Teflonfilter	Best.-Nr.: 514-0070	VWR
Software		
Synopsys Process	Version Z-2007.03	Synopsys

Tabelle A.12.: Liste von Geräten und sonstigen Hilfsmitteln, die im Zusammenhang mit der Chipherstellung verwendet wurden. (Fortsetzung)

Entsprechend obiger Darstellung zu Geräten und Hilfsmitteln enthält die folgende Liste alle Hersteller der verwendeten Chemikalien. Diese sind in Tabelle A.13 zusammengefasst.

- ALLRESIST GESELLSCHAFT FÜR CHEMISCHE PRODUKTE ZUR MIKROSTRUKTURIERUNG MBH, Strausberg, Deutschland
- BASF SE, Produktgruppe: VLSI SELECTIPUR[®], Ludwigshafen, Deutschland
- DOW CORNING CORP., Midland, MI, USA
- EPOXY TECHNOLOGY INC., Billerica, MA, USA
- FLUKA CHEMIE AG, Buchs, Schweiz
- HONEYWELL SPECIALTY CHEMICALS SEELZE GMBH, Markenname: RIEDEL-DE HAËN[®], Produktgruppe: SEMICONDUCTOR GRADE ULSI-PURANAL[®], Seelze, Deutschland
- J.T. BAKER B.V., Produktgruppe: MOS GRADE[®], Deventer, Niederlande
- MICRO CHEMICALS GMBH, Ulm, Deutschland
- MICRO RESIST TECHNOLOGY GMBH, Berlin, Deutschland
- NANONEX CORP., Monmouth Junction, NJ, USA

Substanz	Hersteller
Photolacke	
AR-P 669.04	ALLRESIST
AZ 5206	Micro Chemicals
AZ 5214	Micro Chemicals
UV6.06	micro resist technology

Tabelle A.13.: Liste von Chemikalien für die Herstellung, Verkapselung und Reinigung der Chips.

A.7. Geräte, Hilfsmittel und Chemikalien

Substanz	Hersteller
Entwickler	
AR 600-55	Allresist
ma-D 532	micro resist technology
MIF 326	Micro Chemicals
Imprintlack	
NXR 1020	Nanonex
Verkapselung	
302-3M	Epoxy Technology
96-083	Dow Corning
H20E-PFC	Epoxy Technology
Sylgard® 182	Dow Corning
sonstige	
Aceton	BASF
AF91	BASF
Isopropanol	BASF
HCl (37 %)	BASF
HF (40 %)	BASF
H ₂ O ₂ (31 %)	BASF
H ₂ SO ₄ (94 %)	BASF
NH ₄ OH (25 %)	J.T. Baker
TMAH	Riedel-de Haën
1H,1H,2H,2H-Perfluorooctyltrichlorosilan	Fluka

Tabelle A.13.: Liste von Chemikalien für die Herstellung, Verkapselung und Reinigung der Chips. (Fortsetzung)

B. Ergänzungen zur elektrischen Charakterisierung

B.1. 16-kanalige Messbox

B.1.1. Hardware

Abbildung B.1 zeigt den Verstärkerpfad eines Kanals der Messbox. Die Ansteuerung aller Funktionen geschieht über einen Mikrocontroller vom Typ BTI-ACI-4/4 (WILKE TECHNOLOGIES), der wiederum über die USB-Schnittstelle von einem Messrechner angesteuert wird. Um Einkopplungen von Außen zu vermeiden werden beispielsweise V_D und V_S intern von einem D/A-Wandler (LTC2600) bereitgestellt. Auch die Kompensationsspannung für den Gleichanteil im Arbeitspunkt, V_{comp} wird so erzeugt. Beim Impedanzwandler und dem Hauptverstärker wird aufgrund der hervorragenden Rauscheigenschaften jeweils der OP97 verwendet. Für die schnelle Datenerfassung (1,25 MHz für alle Kanäle zusammen) werden die Ausgangsspannungen über einen SCSI-Anschluss zu einer Messkarte (PCI-6071E) geführt.

B.1.2. Software

Abbildung B.2 zeigt die Benutzeroberfläche des für die Rauschmessungen (s. Abschnitt 4.3.2) benutzten LabView-Programms. Über entsprechende Eingabefelder lassen sich die Parameter der Messungen einstellen. Die Felder im roten Kasten enthalten allgemeine Einstellungen, wie Abtastzeit in jedem Arbeitspunkt, Drain-Source-Spannung V_{DS} und Hauptverstärkung. „0“ steht für keine, „1“ für 10-fache, „2“ für 30-fache und „3“ für 100-fache Nachverstärkung. Im grünen Kasten befinden sich die Parameter für die Variation des Arbeitspunkts. Man kann sowohl für V_{GS} (Elektrolyt-Gate), als auch für V_{BG} (Rückseitenkontakt), Anfangs- und Endwert,

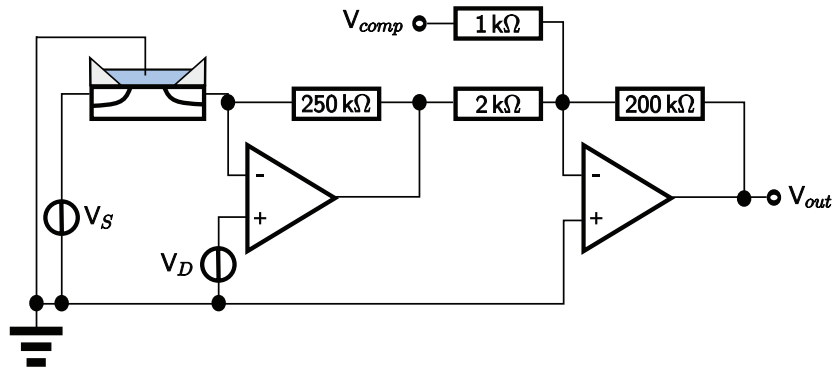


Abbildung B.1.: Verstärkerpfad der 16-kanaligen Messbox. Das Bild zeigt einen vollständigen Kanal bestehend aus den Spannungsquellen V_D und V_S für die Einstellung des Arbeitspunkts, dem EISFET (links oben), dem Impedanzwandler (Mitte) und dem Hauptverstärker (rechts). V_{comp} ist die Kompensationsspannung für den Gleichanteil.

sowie Anzahl der Schritte eingeben. Die Variation von V_{BG} lässt sich über den Kippschalter mit der Beschriftung „Scan“ an- und ausschalten. Der Messbereich der NI-Karte (PCI-6071E) lässt sich im blauen Rahmen einstellen. Der Schalter im violetten Kasten schließlich aktiviert die grafische Ausgabe der gesampelten Daten im darunter liegenden Koordinatensystem. Daneben kann angegeben werden, welcher Kanal dargestellt werden soll.

B. Ergänzungen zur elektrischen Charakterisierung

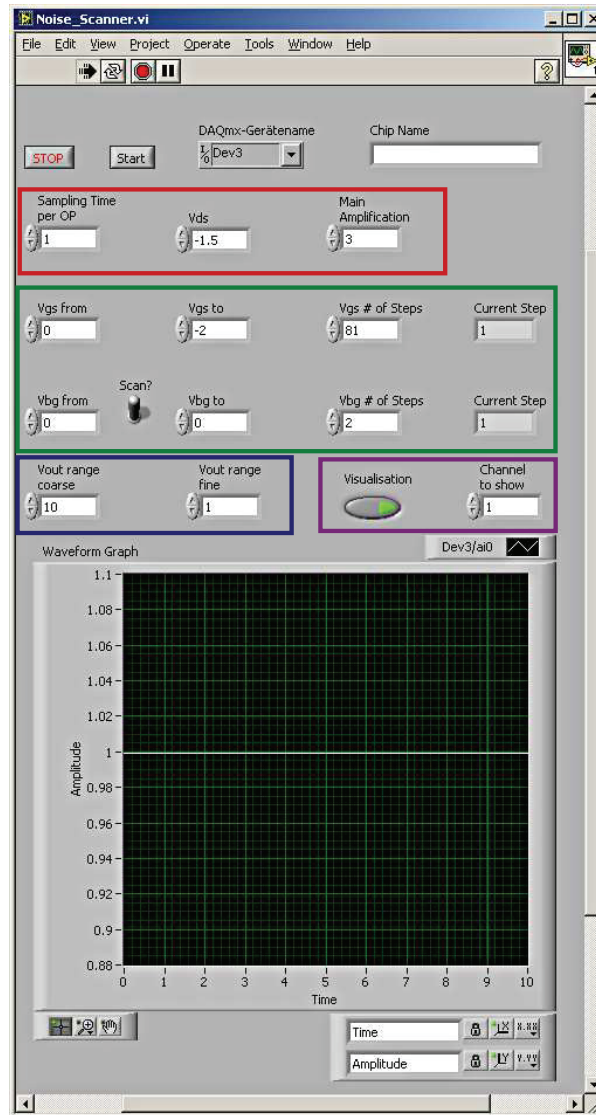


Abbildung B.2.: Benutzeroberfläche der Software zur Charakterisierung des Transistors. Für die Beschreibung der farblich gekennzeichneten Eingabefelder siehe Text.

B.1.3. Geräte, Hilfsmittel und Software

Tabelle B.1 enthält alle elektronischen Bauelemente, Messgeräte und Software, die für die elektrische Charakterisierung verwendet wurden. Die Liste beschränkt sich nicht auf die in Kapitel 4 beschriebenen Messungen. Insbesondere wurde die Probe Station zusammen mit dem Halbleiter-Charakterisierungs-System (4200-SCS, KEITHLEY) auch in der Prozesskontrolle eingesetzt. Der Patch-Verstärker, der Lock-In-Verstärker und einige Elektronik-Komponenten (OP124, MAX335, MAX336 und LTC2600) kamen vor allem in den Experimenten zur Zell-Nanowire-Kopplung in Kapitel 5 zum Einsatz. Zusätzlich zur Kurzbezeichnung in der rechten Tabellenspalte sind in der folgenden Aufstellung alle Herstellerangaben noch einmal ausführlich zusammengefasst:

- ANALOG DEVICES INC., Norwood, MA, USA
- BURR BROWN CORP., Tucson, AZ, USA
- HEKA ELEKTRONIK DR. SCHULZE GMBH, Lambrecht/Pfalz, Deutschland
- KEITHLEY INSTRUMENTS INC., Cleveland, OH, USA
- LINEAR TECHNOLOGY CORP., Milpitas, CA, USA
- MAXIM INTEGRATED PRODUCTS INC., Sunnyvale, CA, USA
- NATIONAL INSTRUMENTS CORP., Austin, TX, USA
- STANFORD RESEARCH SYSTEMS INC., Sunnyvale, CA, USA
- SÜSS MICROTEC AG, Garching, Deutschland
- THE MATHWORKS INC., Natick, MA, USA
- WILKE TECHNOLOGY GMBH, Aachen, Deutschland

Art von Gerät/Hilfsmittel	Typ	Hersteller
Elektronikkomponenten		
Digital-Analog-Wandler	LTC2600	Linear Technology
Mikrocontroller	BTI-ACI-4/4	Wilke Technology
Multiplexer	MAX336	Maxim
Operationsverstärker (16-kanalige Messbox)	OP97	Analog Devices
Operationsverstärker (Transferfunktions Messbox)	OP124	Burr Brown
Schalter	MAX335	Maxim

Tabelle B.1.: Liste von Geräten und sonstigen Hilfsmitteln, die im Zusammenhang mit der elektrischen Chipcharakterisierung verwendet wurden.

Art von Gerät/Hilfsmittel	Typ	Hersteller
Messgeräte		
Datenerfassungskarte	PCI-6071E	National Instruments
Lock-In-Verstärker	SR830	Stanford Research
Halbleiter-Charakterisierungs-System	4200-SCS	Keithley
Patch-Verstärker	EPC10	HEKA
Probe-Station	PM5 mit ShieldEnclosure	Süss
Software		
LabView	Version 8.5	National Instruments
Matlab	Version 7.5 (R2007b)	MathWorks
Patchmaster	-	HEKA

Tabelle B.1.: Liste von Geräten und sonstigen Hilfsmitteln, die im Zusammenhang mit der elektrischen Chipcharakterisierung verwendet wurden. (Fortsetzung)

B.2. Herleitungen zu den Rauschmodellen

B.2.1. Äquivalente Rauschbandbreite

Die äquivalente Rauschbandbreite ist eine Größe, die unter Berücksichtigung des Frequenzgangs eines Verstärkers angibt, welcher Bandbreite dies für einen idealen Verstärker entsprechen würde. Man erhält sie bei weißem Rauschen, indem man die Beiträge aller Frequenzen aufintegriert und den erhaltenen Wert mit der (konstanten) Leistungsdichte des Rauschens normiert.

Im Fall des OP97 entnimmt man dem Datenblatt ein *gain bandwidth product* von 0,9 MHz [84]. Das bedeutet, dass die zweite Verstärkerstufe die Verstärkung von 100 bis zu einer Frequenz von 9 kHz erreicht. Danach fällt diese mit $1/f$ ab. Der Anteil des weißen Rauschens, der damit effektiv zum Rauschen am Ausgang des OP97 beiträgt ist dann:

B.2. Herleitungen zu den Rauschmodellen

$$B = 9 \text{ kHz} + \int_{9 \text{ kHz}}^{\infty} \frac{1}{f} \cdot df = 18 \text{ kHz} \quad (\text{B.1})$$

Dieser Wert wird in Kapitel 4 verwendet um die Leistungen beziehungsweise Effektivwerte des thermischen und des granularen Rauschens zu berechnen.

B.2.2. Gatebezogene Rauschleistungsdichten

Da die Schwankungen (Kleinsignale) des Ausgangsstroms I_D bei einem FET definitionsgemäß über die Transkonduktanz $g_m = \frac{\partial I_D}{\partial V_{GS}}$ mit auf eine (effektive) Schwankung der Gate-Spannung V_{GS} bezogen werden können, kann mit Formel B.2 eine Umrechnung der zugehörigen Rauschleistungsdichten erfolgen.

$$S_{I_D} = \overline{\Delta I_D^2} = g_m^2 \overline{\Delta V_{GS}^2} = g_m^2 S_{V_{GS}} \quad (\text{B.2})$$

Damit folgt für die Leistungsdichte des thermischen Rauschens eines Widerstands:

$$S_{I_D, \text{thermisch}} = 4k_B T R \Leftrightarrow S_{V_{GS}, \text{thermisch}} = \frac{4k_B T R}{g_m^2} \quad (\text{B.3})$$

Hier sind k_B und T die Boltzmann-Konstante bzw. die absolute Temperatur. In Kapitel 4 wird diese Leistungsdichte zusätzlich mit einem Faktor von $2/3$ multipliziert, um der ungleichmäßigen Verteilung des Kanalwiderstands bei einem FET Rechnung zu tragen [89]. Wendet man Formel B.2 auf die Leistungsdichte des granularen Rauschens an, so ergibt sich:

$$S_{I_D, \text{thermisch}} = 2eI_0 \Leftrightarrow S_{V_{GS}, \text{thermisch}} = \frac{2eI_0}{g_m^2} = \frac{e(V_{GS} - V_{th})}{g_m} \quad (\text{B.4})$$

In diesem Ausdruck bedeuten e die Elementarladung und I_0 den Strom im Arbeitspunkt. Das letzte Gleichheitszeichen gilt nur, wenn sich der Transistor im Sättigungsbereich befindet.

C. Ergänzungen zu den Zellmessungen

C.1. Messaufbau

C.1.1. Hardware

Für die Transferfunktionsmessungen wurde eine spezielle Messelektronik mit größerer Bandbreite entwickelt (s. Abschnitt 5.3.3). Um eine Redundanz zu vermeiden, enthält bereits Tabelle B.1 alle Angaben zu den verwendeten Bauelementen und den weiteren Geräten des gesamten Messaufbaus. Da im Hauptteil bereits eine recht ausführliche Beschreibung der Messbox enthält, werden hier nur die wichtigsten Details erwähnt: Im Gegensatz zur 16-kanaligen Box wird hier der ebenfalls rauscharme, aber schnellere OP124 (BURR BROWN) verwendet. Die Messelektronik sollte möglichst einfach und flexibel gehalten werden. Deshalb wird die Einstellung der Betriebsspannungen V_S und V_D über die Analogausgänge der Messkarte (PCI-6071E) vorgenommen, so dass kein Mikrocontroller benötigt wird. Nur die Rückseitenspannung V_{BG} wird von einem internen D/A-Wandler (LTC2600) erzeugt. Da nur ein Verstärkerpfad existiert, wird der jeweilige Kanal auf dem Chip mit einem Multiplexer (MAX336) ausgewählt. Die Rückkoppelwiderstände werden mit einem Digitalschalter (MAX335) geschaltet. LTC2600, MAX335 und MAX336 werden über die Digitalausgänge der Messkarte programmiert.

C.1.2. Software

Für die einkanalige Messbox wurden mit LabView zwei Programme erstellt, die eine Ansteuerung der vielfältigen Funktionen und eine umfassende Charakterisierung eines Kanals ermöglichen. Diese Software und das Programm

„Transfer_Measurement.vi“, das Dr. Mathias Schindler zur Ansteuerung des LI-Verstärkers SR830 am IBN2 entwickelt hatte, wurden für die Transferfunktionsmessungen in Abschnitt 5.3 verwendet.

In Abbildung C.1 sind die Fenster der beiden neuen Programme nebeneinander dargestellt. Links im Bild befindet sich das Kontrollprogramm („LI_control.vi“). Im roten Rahmen kann der Arbeitspunkt eingestellt, und der Kanal gewählt werden. Der grüne Kasten enthält für jeden der drei Impedanzwandler für Drain-, Source- und Gate(leck)strom (I_D , I_S bzw. I_G) Kippschalter mit den zu Verfügung stehenden Widerständen, der diese im Rückkoppelpfad an- oder abschaltet. Die Schalter im blau gekennzeichneten Bereich schließlich ermöglichen das getrennte Zuschalten eines externen Kleinsignals, beispielsweise für Stimulation oder Lock-In Messungen, zur Source- und Drain-Spannung. Alle Änderungen werden erst an der Messbox übernommen, wenn der Knopf „Set to new state“ angeklickt wird. Dies wird durch das Blinken der roten Statusleuchte an der Box signalisiert. Der Knopf „Initialize System“ setzt alle Spannungen auf Null und alle Rückkoppelwiderstände auf $5\text{ k}\Omega$.

Das rechte Fenster zeigt die Benutzeroberfläche für das Aufzeichnen von Transferkennlinien („LI_Frontgate_Char_1.0.vi“). Im violetten Rahmen befinden sich alle entsprechenden Parameter: Kanal, Anfangs- und Endwert, sowie Anzahl der Schritte für V_{GS} , sowie V_{DS} und Rückseitenspannung V_{BG} . Die Ergebnisse einer Messung werden in den vier Koordinatensystemen veranschaulicht. Das größte (a) stellt die I_D - V_{GS} -Charakteristik dar. In Graph (b) wird deren Ableitung, die g_m - V_{GS} -Kennlinie angezeigt und die Graphen (c) bzw. (d) zeigen die Abhängigkeit von I_S bzw. I_G von V_{GS} , so dass Leckströme sofort erkannt werden können.

C. Ergänzungen zu den Zellmessungen

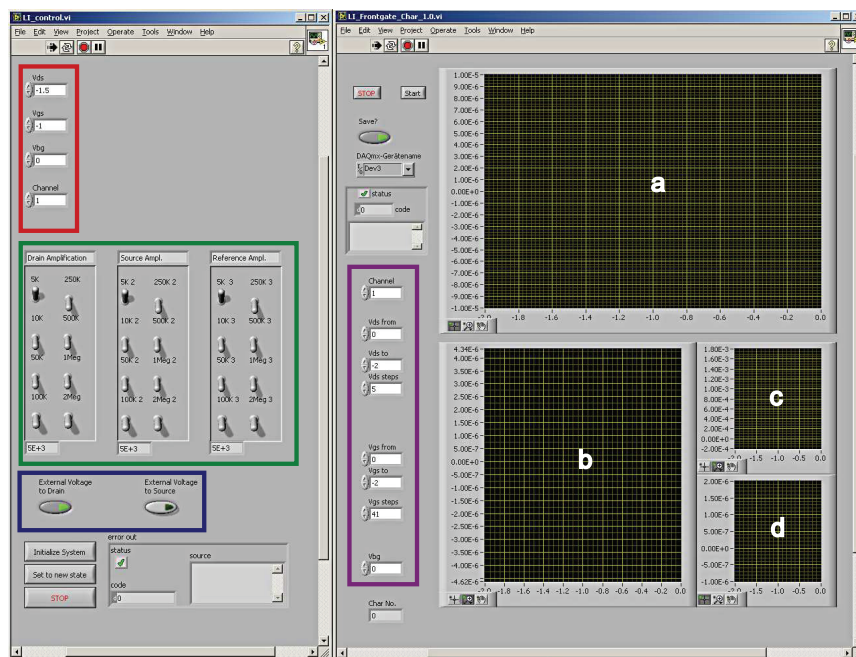


Abbildung C.1.: Benutzeroberfläche der Software für die Transferfunktionsmessungen. Links ist das Programm für die Ansteuerung der Messbox gezeigt. Das Rechte Bild stellt das Programm für die Chipcharakterisierung dar.

C.2. Chips vom Typ11

Für die Transferfunktionsmessungen mit Zellen (s. Abschnitt 5.3) wurden neben den in dieser Arbeit vorgestellten Chips auch NW-Chips aus einem parallel laufenden Projekt verwendet, in dem es um die Detektion von Biomolekülen ging. Die Besonderheit lag in der großen Länge der NWs ($20\text{ }\mu\text{m}$ und $40\text{ }\mu\text{m}$). So war es möglich, die Abhängigkeit der Zell-Nanowire-Kopplung von diesem Parameter zu untersuchen.

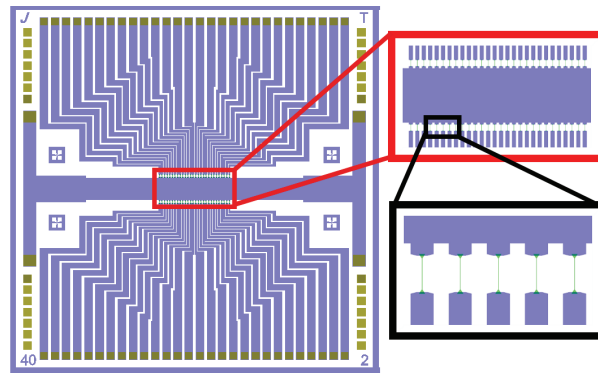


Abbildung C.2.: Layout der Chips vom Typ11. Lange, einzelne NW für Zell-Kopplungsexperimente und die Detektion von Biomolekülen im Rahmen eines Partnerprojekts.

Die Herstellung und das Layout der Chips unterschied sich geringfügig von der Beschreibung in Kapitel 3. Der vollständige Fabrikationsprozess ist in Referenz [75] beschrieben. In Abbildung C.2 ist das geänderte Layout illustriert. Die Chips verfügten über zwei Reihen mit jeweils 28 einzelnen NWs in einem Abstand von $40\text{ }\mu\text{m}$, von denen allerdings nur insgesamt 16 adressiert werden konnten.

Aufgrund der anderen Geometrie waren auch die elektrischen Eigenschaften verändert. Bei der Transferkennlinie machte sich dies in geringeren Transistorströmen bemerkbar (s. Abbildung C.3). Der Verlauf ist aber mit dem der Chips aus dieser Arbeit qualitativ nahezu identisch, so dass sich daraus für die quantitative Auswertung in Kapitel 5 keine Besonderheiten ergeben. Es musste lediglich eine andere Transferfunktion für die Korrekturen verwendet werden (s. Abbildung 5.12 und zugehöriger Text).

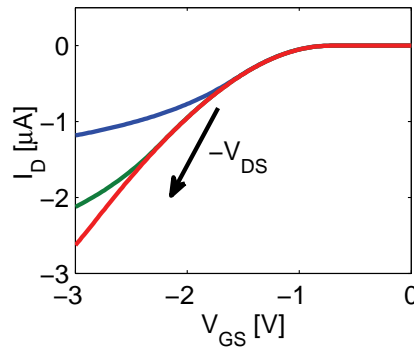


Abbildung C.3.: Transfercharakteristik eines Transistors vom Typ11. Das NW bei dieser Messung hatte eine Breite von 400 nm und eine Länge von 20 μm .

C.3. Programm für die Auswertung der Transferfunktionen

Das in Abschnitt 5.3.5 dargestellte Korrekturverfahren wurde in MATLAB umgesetzt. Der nachfolgende Quellcode zeigt diese Realisierung, wobei Variablennamen in Anlehnung an die Theorie verwendet wurden: H_J ist die extrahierte Transferfunktion zwischen der Spannung im Zellinneren V_M und dem Potential am Gate des Transistors beziehungsweise im Spalt V_J . Desweiteren sind TF_data die gemessene (Gesamt-)Transferfunktion, R_s der Serienwiderstand der Pipette, C_m die Membrankapazität der Zelle, g_m die Transkonduktanz des Transistors, R_f der Rückkoppelwiderstand des Impedanzwandlers, sowie $EPC10_calibration$, $Box_calibration$ und $Chip_calibration$ die zuvor ermittelten Transferfunktionen der jeweiligen Komponente des Messsystems. Zum besseren Verständnis sind die einzelnen Programmteile kommentiert (durch % eingeleitete Zeilen).

```
function H_J = TF_correct(TF_data,Rs,Cm,gm,Rf,EPC10_calibration, ...
Box_calibration,Chip_calibration)

% Initialisierung der Variablen
L = length(TF_data);
Vp = zeros(L,2);
Vp(:,1) = TF_data(:,1);

% Aufsuchen der jeweils nächstgelegenen Frequenz
% in den Transferfunktionen des EPC10, des Chips und der Box
```

C.4. Biologische Lösungen und Protokolle

```
% und durchführen der entsprechenden Korrektur
for n = 1:L
    [nixwissenwollen, freq_find] = min(abs(EPC10_calibration(:,1)-TF_data(n,1)));
    Vp(n,2) = EPC10_calibration(freq_find,2);

    [nixwissenwollen, freq_find] = min(abs(Chip_calibration(:,1)-TF_data(n,1)));
    Vp(n,2) = Vp(n,2)*Chip_calibration(freq_find,2);

    [nixwissenwollen, freq_find] = min(abs(Box_calibration(:,1)-TF_data(n,1)));
    Vp(n,2) = Vp(n,2)*Box_calibration(freq_find,2);
end

% Berechnen der effektiven Membranspannung mit Hilfe des
% komplexen Spannungsteilers aus Membrankap. und Serienwiderstand
Vm = zeros(L,2);
Vm(:,1) = TF_data(:,1);
for n = 1:L
    imp_Cm = 1 / (2i*pi*Vm(n,1)*Cm);
    Vm(n,2) = abs(imp_Cm/(imp_Cm+Rs)) * Vp(n,2);
end

% Berechnen der Transferfunktion von Zellinnerem zu Transistor (bzw. Spalt)
% Der Faktor 0.1 Berücksichtigt, dass Spannungen am Monitor-Ausgang des
% EPC10 immer um einen Faktor 10 Verstärkt werden.
% Der Ausdruck 0.1*h(:,2)/(gm*Rf) entspricht zusammen der Spannung im Spalt
H_J = TF_data;
H_J(:,2) = 0.1 * h(:,2)/(gm*Rf) ./ Vm(:,2);
end
```

Mit der so erhaltenen, korrigierten Transferfunktion lässt sich nun der Fit an das theoretisch hergeleitete Modell vornehmen. Zunächst wird ein *fitype*-Objekt gemäß Gleichung 5.5 erzeugt. Mit dem Kommando *fit* wird daraufhin eine Least-Squares Anpassung des Parameters „tau“ vorgenommen und ein entsprechendes *cfitype*-Objekt erzeugt. Die letzte Zeile des folgenden Quellcodes dient der Speicherung des Parameters als „normale“ Variable.

```
fitype_H_J = fitype('1/sqrt(1+(2*pi*f*tau)^2)', 'independent', 'f');
fit_H_J = fit(H_J(:,1), H_J(:,2), fitype_H_J);
tau_fit = fit_h.tau
```

C.4. Biologische Lösungen und Protokolle

C.4.1. Vorbehandlung und Reinigung der Chips

Bevor Zellen, gleich welcher Art, auf die Chips ausgesät wurden, wurden diese gründlich gereinigt und mit einer Proteinbeschichtung versehen, die ein besseres Wachstum der Zellen ermöglichte. Aufgrund der Empfindlichkeit der Nanodrähte,

C. Ergänzungen zu den Zellmessungen

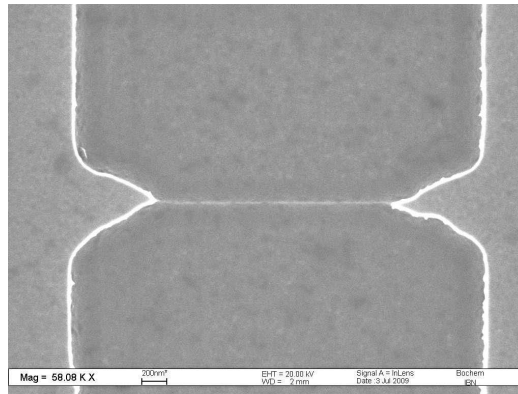


Abbildung C.4.: Schäden der Chips durch die wiederholte Reinigung mit 2%-iger Hellmanex-Lösung. Aufgrund der hohen Basizität der Lösung wurden das Silicium vollständig weggeätzt. Die verbleibenden, ausgefranst Strukturen befinden sich im BOX.

führte eine Reinigung mit Ultraschall, wie sie sonst an unserem Institut üblich ist, zu einem Verlust von circa 50 % der Transistoren.

Da dies nicht akzeptabel war, musste ein alternatives Verfahren entwickelt werden. Es stellte sich heraus, dass ein längeres Inkubieren der Chips (zum Beispiel über Nacht) in 2%-iger Hellmanex (HELLMA) Lösung, den gewünschten Reinigungseffekt hatte. Als basische Substanz greift diese Silicium und Siliciumdioxid geringfügig an. Es wurde beobachtet, dass dies nach einiger Zeit die NWs buchstäblich auflöste (siehe Abbildung C.4). Je nach Dicke des Gateoxids war dies teilweise schon nach einer Nacht der Fall. Deshalb wurde die Konzentration der Hellmanex-Lösung auf 1 % und die maximale Einwirkzeit auf eine Stunde reduziert, was immer noch ausreichend war. Danach wurden die Chips in einem Becherglas für mindestens eine Stunde mit deionisiertem Wasser gespült. Um danach steriles Arbeiten zu gewährleisten, wurde der Glasring mit 70%-igem unvergällten Ethanol gefüllt und in eine Sterilbank gebracht.

Nach einer Einwirkzeit von mindestens 15 Minuten wurde der Alkohol abgesaugt. Nachdem die Reste vollständig verdampft, und die Chips zwei mal mit jeweils 500 μ l PBS-Lösung (Zusammensetzung s. Tabelle C.1) gespült worden waren, wurden sie für eine Stunde mit 50 μ l einer Gelatine-Fibronectin-Lösung (Zusam-

Substanz	Konzentration
NaCl	137 mmol/l
KCl	2,7 mmol/l
Na ₂ PO ₄	8,1 mmol/l
KH ₂ PO ₄	1,47 mmol/l

Tabelle C.1.: Zusammensetzung der Phosphat gepufferten Salzlösung, die zum Spülen verwendet wurde (PBS). Die Lösung wurde mit bidestilliertem Wasser angesetzt.

Substanz	Konzentration
Gelatine	200 mg/l
Fibronectin	0,5 % (v/v)

Tabelle C.2.: Zusammensetzung der Gelatine-Fibronectin-Lösung zum Beschichten der Chips. Die Gelatine wurde durch Autoklavieren in bidestilliertem Wasser gelöst. Danach wurde dieser das Fibronectin zugesetzt.

mensetzung s. Tabelle C.2) inkubiert. Nach dieser Zeit erfolgte erneutes, zweimaliges Spülen mit PBS. Die Zellen wurden nach bis zu 24-stündiger Lagerung der Chips im Kühlschrank ausplattiert.

Die weitere Behandlung unterschied sich je nach Art der Zellen, so dass sie in den entsprechenden Abschnitten beschrieben wird. Nach den Experimenten war das Vorgehen jedoch wieder identisch: Die Chips wurden zunächst mit 70 % Ethanol sterilisiert und gespült. Danach wurden die Rückstände aus Proteinbeschichtung und toten Zellen, die sich mit Hellmanex allein nicht entfernen ließen, bei 37°C mit Trypsin verdaut (Dauer: 10 Minuten).

C.4.2. HL-1 Zellen

Sowohl zum Erhalt der Zellkultur, als auch zum Kultivieren der Zellen auf den Chips wurde angereichertes Claycomb Medium verwendet. Tabelle C.3 enthält dessen Zusammensetzung. Die extrazellulären Ableitungen (s. Abschnitt 5.2) wurden ebenfalls in diesem Medium durchgeführt. Falls nötig wurde dabei Norepinephrin

C. Ergänzungen zu den Zellmessungen

Substanz	Konzentration
Fötale Kälberserum	10 % (v/v)
Penicillin	100 Units/ml
Streptomycin	100 µg/ml
Norepinephrin	0,1 mmol/l
Ascorbinsäure	0,3 mmol/l
L-Glutamin	2 mmol/l

Tabelle C.3.: Zusammensetzung des angereicherten Claycomb Mediums zum Kultivieren von HL-1 Zellen. Die angegebenen Substanzen wurden zu gekauftem Claycomb Medium hinzugefügt.

zugegeben, um ein regelmäßiges Schlagen der Zellen zu induzieren.

Da die Zellen sich in Kultur beliebig oft teilen, muss ihre Dichte regelmäßig reduziert werden. Andernfalls ist eine Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff nicht mehr gewährleistet bzw. die Stoffwechselprodukte erreichen eine toxische Konzentration. Das Überführen der Zellen von einer Kulturflasche (25 ml T-Flasche) in eine neue bei gleichzeitigem Verwerfen eines Teils der Zellen wird als *Splitten* bezeichnet. Bei einer ca. 80%-igen Bedeckung des Flaschenbodens, was zwei mal die Woche der Fall war, wurde dies nach folgendem Schema durchgeführt:

- Das Medium wurde aus den T-Flaschen abgesaugt und es wurde zwei mal mit 5 ml PBS-Lösung gespült. Um die Zellen dadurch nicht zu großen Schärkräften auszusetzen sollte das PBS (s. Tabelle C.1) stets über den unbewachsenen Rand der Flasche zugegeben werden.
- Die Zellen wurden mit 1 ml einer wässrigen Lösung von 0,5 mg/ml Trypsin und 0,2 mg/ml EDTA behandelt. Das Trypsin verdaut die Proteine, die für das Haften der Zellen auf der Oberfläche verantwortlich sind, so dass diese sich nach einer Einwirkzeit von ca. fünf Minuten bei 37 °C ablösen.
- Um zu Verhindern, dass das Trypsin auch die Zellen selbst angreift, wird die Verdauung nach dieser Zeit mit 5 ml Medium gestoppt. Die Zellsuspension wurde dann für fünf Minuten bei 200 g zentrifugiert.
- Danach wurde der Überstand abgesaugt und das Pellet in 1 ml Medium resuspendiert.
- Schließlich wurden 50 µl - 100 µl dieser Zellsuspension in eine neue T-Flasche

Substanz	Konzentration
Fötales Kälberserum	10 % (v/v)
Nichtessenzielle Aminosäuren	1 % (v/v)
Penicillin	100 Units/ml
Streptomycin	100 µg/ml
L-Glutamin	2 mmol/l

Tabelle C.4.: Zusammensetzung des Mediums M10 zum Kultivieren der HEK Zellen. Die angegebenen Substanzen wurden zu gekauftem *minimal essential medium* (MEM) hinzugegeben.

mit 5 ml Medium gegeben. Sollten Zellen auf Chips ausgesät werden, wurde zunächst die Zellkonzentration bestimmt und eine entsprechende Verdünnung hergestellt. Das weitere Vorgehen ist in Kapitel 5 beschrieben.

C.4.3. HEK-Zellen

Tabelle C.4 zeigt die Zusammensetzung des Mediums M10, das für das Kultivieren der HEK Zellen verwendet wurde. Für die Transferfunktionsmessungen (s. Abschnitt 5.3) hingegen wurde das Medium durch extrazelluläre Patch-Lösung ersetzt (s. Tabelle C.5). Diese Lösung wurde auch für die Rauschmessungen in Kapitel 4 verwendet. Die intrazelluläre Patch-Lösung hatte die in Tabelle C.6 angegebene Zusammensetzung. Da sich auch die HEK Zellen stetig teilen, mussten auch sie zwei Mal wöchentlich gesplittet werden. Die Vorgehensweise war identisch, wie bei den HL-1 Zellen (s. Seite 164).

C. Ergänzungen zu den Zellmessungen

Substanz	Konzentration
NaCl	130 mmol/l
KCl	3 mmol/l
MgCl ₂	1 mmol/l
HEPES	10 mmol/l
CaCl ₂	2 mmol/l

Tabelle C.5.: Zusammensetzung der extrazellulären Patchlösung für HEK Zellen. Die Lösung wurde mit bidestilliertem Wasser angesetzt und durch Zugabe von 1 mol/l NaOH auf einen Wert von 7,4 eingestellt.

Substanz	Konzentration
NaCl	2 mmol/l
KCl	120 mmol/l
MgCl ₂	4 mmol/l
HEPES	5 mmol/l
EGTA	0,2 mmol/l
Mg-ATP	0,2 mmol/l

Tabelle C.6.: Zusammensetzung der intrazellulären Patchlösung für HEK Zellen. Die Lösung wurde mit bidestilliertem Wasser angesetzt und durch Zugabe von 1 mol/l KOH auf einen Wert von 7,4 eingestellt.

C.4.4. Glutaraldehyd Fixierung

Um die Zellen mit dem REM untersuchen zu können, mussten sie nach dem folgenden Protokoll fixiert und getrocknet werden. Alle Mengenangaben beziehen sich auf die Durchführung der Fixierung in einer *24-Well-Platte*:

- **Fixierung:** Die Proben werden zuerst zwei Mal mit PBS gewaschen, das dann bis auf einen kleinen Rest entfernt wird. Danach werden 2 ml Fixierlösung (s. Tabelle C.7) hinzugegeben, in der eine Inkubation für mindestens 4 Stunden erfolgt.
- **Ethanol-Austausch:** Die Fixierlösung wird nun Schritt für Schritt durch Ethanol (absolut) ersetzt, um den Proben das Wasser zu entziehen. Dafür wird in jeder Kammer die Hälfte der Lösung abgesaugt und entsorgt. Danach wird wieder mit 1 ml Ethanol aufgefüllt. Die Inkubationszeiten nach den ersten beiden dieser Schritte betragen 2,5 Stunden und mindestens 12 Stunden (über Nacht). Es folgen vier Schritte á 15 Minuten. Danach befinden sich die Proben in 98,4%-igem Ethanol, der nun mit 100 % Ethanol substituiert wird.
- **Trocknung:** Für die Untersuchung im REM müssen die Proben getrocknet werden. Im Fall von HEK293-Zellen erfolgt dies durch einfaches Trockenfallen. Hierzu werden die Chips offen unter einem Abzug stehen gelassen, bis das Ethanol vollständig verdampft ist. Ist danach eine Lagerung der Proben erforderlich, so erfolgt diese in einem Exsikator, um die Feuchtigkeit der Luft fern zu halten.

Substanz	Konzentration
HEPES	20 mmol/l
Glutaraldehyd	3,5 % (v/v)

Tabelle C.7.: Zusammensetzung der Fixierlösung. Der pH-Wert der Lösung wurde durch Zugabe von 1 mol/l NaOH auf einen Wert von 7,4 eingestellt.

C.4.5. Liste der Chemikalien

Alle Chemikalien, die für die Kultivierung der Zellen benutzt wurden, sind in Tabelle C.8 zusammengestellt. Sie wurden von den folgenden Herstellern bezogen:

C. Ergänzungen zu den Zellmessungen

- CARL ROTH GMBH & CO. KG, Karlsruhe, Deutschland
- HELIMA GMBH & Co. KG, Müllheim, Deutschland
- HONEYWELL SPECIALTY CHEMICALS SEELZE GMBH, Markenname: RIEDEL-DE HAËN[®], Seelze, Deutschland
- INVITROGEN GMBH, Karlsruhe, Deutschland
- MERCK KGAA, Darmstadt, Deutschland
- SIGMA-ALDRICH CHEMIE GMBH, Taufkirchen, Deutschland

Substanz	Hersteller
Ascorbinsäure	Sigma-Aldrich
CaCl ₂	Sigma-Aldrich
Claycomb Medium	Sigma-Aldrich
EGTA	Sigma-Aldrich
Ethanol	Riedel-de Haën
Fetales Kälberserum	Invitrogen
Fibronectin	Sigma-Aldrich
G418	Invitrogen
Gelatine	Sigma-Aldrich
Glucose	Sigma-Aldrich
Glutaraldehyd	Sigma-Aldrich
HEPES	Sigma-Aldrich
Hellmanex	Hellma
Isopropanol	Merck
KCl	Sigma-Aldrich
KH ₂ PO ₄	Carl Roth
KOH	Sigma-Aldrich
L-Glutamin	Sigma-Aldrich
Minimal Essential Medium (MEM)	Sigma-Aldrich
Mg-ATP	Sigma-Aldrich
MgCl ₂	Sigma-Aldrich
Na ₂ HPO ₄	Carl Roth
NaCl	Sigma-Aldrich
NaHCO ₃	Merck
NaOH	Sigma-Aldrich

Tabelle C.8.: Liste der Chemikalien, die im Zusammenhang mit der Zellkultur und elektrophysiologischen Messungen eingesetzt wurden.

C.4. Biologische Lösungen und Protokolle

Substanz	Hersteller
Nichtessentielle Aminosäuren	Invitrogen
Norepinephrin	Sigma-Aldrich
Penicillin	Sigma-Aldrich
PLL	Sigma-Aldrich
Streptomycin	Sigma-Aldrich
Tetraethylammonium (TEA)	Sigma-Aldrich
Trypsin EDTA	Sigma-Aldrich

Tabelle C.8.: Liste der Chemikalien, die im Zusammenhang mit der Zellkultur und elektrophysiologischen Messungen eingesetzt wurden. (Fortsetzung)

D. Variablen, physikalische Konstanten und Abkürzungen

In diesem letzten Teil des Anhangs sind alle verwendeten Symbole und Abkürzungen aufgeführt. Für eine bessere Lesbarkeit der Tabelle wurde eine Untergliederung nach reinen mathematischen und physikalischen Variablen, Naturkonstanten und Abkürzungen vorgenommen. Da Einige der Variablen im Hauptteil in unterschiedlichen Zusammenhängen verwendet und mit entsprechenden Indices gekennzeichnet wurden, wird auf die Aufzählung aller dieser Varianten verzichtet, sofern eine Verwechslung ausgeschlossen ist. In solchen Fällen wurde der Index durch „...“ ersetzt. In einigen Zeilen befindet sich die gleiche Variable einmal als Großbuchstabe und einmal eingeklammert als Kleinbuchstabe dahinter. Bei den klein geschriebenen Variablen handelt es sich dann um eine flächenbezogene Größe.

Variable / Konstante / Abkürzung	Erläuterung
Mathematische und physikalische Variablen	
$a...$	gleichanteilfreie Schwankungsgröße
A	allgemeine Schwankungsgröße (mit Gleichanteil) oder diverse Flächen
$C_{Ox} (c_{Ox})$	Oxidkapazität
$C_{FM} (c_{FM})$	Kapazität der freien Zellmembran
$C_{JM} (c_{JM})$	Kapazität der adhärenierten Zellmemb.
$C_M (c_M)$	Kapazität der Zellmembran
d	diverse Schichtdicken
$D...$	diverse Diffusionskonstanten
ϵ_r	relative Dielektrizitätskonstante

Tabelle D.1.: Liste aller in dieser Arbeit verwendeten Symbole und Abkürzungen.

Variable / Konstante / Abkürzung	Erläuterung
η	Geometriefaktor
G_{Cl} (g_{Cl})	Leitwert der Cl(I)-Kanäle
G_{FM} (g_{FM})	Leitwert der freien Zellmembran
G_{JM} (g_{JM})	Leitwert der adhärenierten Zellmemb.
G_K (g_K)	Leitwert der K(I)-Kanäle
G_L (g_L)	Leitwert der Leckkanäle
g_m	Transkonduktanz
G_{Na} (g_{Na})	Leitwert der Na(I)-Kanäle
$H(\omega)$	Gesamttransferfunktion
$H_J(\omega)$	Transferfkt. der adhärenierten Membran
$H_M(\omega)$	Transferfkt. Patch-Pipette zu Zelle
$H_S(\omega)$	Transferfkt. der Messelektronik
I_D	Drain-Strom
I_J (j_J)	Strom im Spalt
I_M (j_M)	Strom über Zellmembran
I_0	Gleichanteil eines Stroms
L	Kanal-/NW-Länge
λ	Quellterm für Ladungseinstrom in den Spalt
μ_h	Beweglichkeit der Löcher in Silicium
μ_n	Beweglichkeit der Elektronen in Silicium
N_t	Störstellendichte
P_{Cl^-}	Membranpermeabilität für Cl^-
P_{K^+}	Membranpermeabilität für K^+
P_{Na^+}	Membranpermeabilität für Na^+
$P_{...}$	diverse Wahrscheinlichkeiten
R	Zellradius
R_f	Rückkoppelwiderstand
R_J (r_J)	Abdichtwiderstand
$\rho_{...}$	div. Autokorrelationsfunktionen oder Ionenkonzentrationen
$S_{...}$	diverse Rauschleistungsdichten

Tabelle D.1.: Liste aller in dieser Arbeit verwendeten Symbole und Abkürzungen.

D. Variablen, physikalische Konstanten und Abkürzungen

Variable / Konstante / Abkürzung	Erläuterung
S_I	Leistungsdichte Stromrauschen
S_V	Leistungsdichte Spannungsrauschen
$S_{V_{GS}, \dots}$	div. gatebez. Rauschleistungsdichten ...: Name von Quelle bzw. Modell
σ_{\dots}	div. Effektivwerte/Std.abweichungen
T	(absolute) Temperatur
τ_{\dots}	diverse Zeitkonstanten
V_{DS}	Drain-Source-Spannung
V_{GS}	Gate-Source-Spannung
V_J	Spannung im Spalt
V_M	(intrazelluläres) Membranpotential
V_{out}	Ausgangsspannung
V_{th}	Schwellspannung
$V_{+/-}$	Eingangsspannungen am OP
V_0	Gleichanteil einer Spannung
W	Kanal-/NW-Breite
z_i	Ladungszahl / Valenz einer Ionensorte
$[\dots]_{ausser}$	div. extrazell. Konzentrationen
$[\dots]_{innen}$	div. intrazell. Konzentrationen
Physikalische Konstanten	
$e = 1,6022 \cdot 10^{-19} \text{ As}$	Elementarladung
$\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12} \text{ As/Vm}$	Dielektrizitätskonstante von Vakuum
$g = 9,81 \text{ N/kg}$	Erdbeschleunigung
$k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$	Boltzmann-Konstante
Abkürzungen	
AKF	Autokorrelationsfunktion
AP	Aktionspotential
BOX	Buried Oxide
COP	Crystal Originating Particles
EAG	Ether-a-GoGo
EISFET	Elektrolyt-Isolator FET
FET	Feldeffekt-Transistor

Tabelle D.1.: Liste aller in dieser Arbeit verwendeten Symbole und Abkürzungen.

Variable / Konstante / Abkürzung	Erläuterung
FIB	Focused Ion Beam
FOCTS	Perfluorooctyltrichlorosilan
HEK	Human Embryonic Kidney
ISFET	Ionensensitiver FET
MOSFET	Metal-Oxide-Semiconductor FET
NIL	Nanoimprintlithografie
NW	Nanowire / Nanodraht
OP	Operationsverstärker
PCB	Printed Circuit Board
PDMS	Polydimethylsiloxan
PMMA	Polymethylmethacrylat
TEA	Tetraethylammonium
TMAH	Tetramethylammoniumhydroxid
RCA	Reinigungsverfahren benannt nach der RADIO CORPORATION OF AMERICA
REM	Rasterelektronenmikroskop(ie)
rms	Root Mean Square (Effektivwert)
RT	Raumtemperatur
RTP	Rapid Thermal Processing
SOI	Silicon-on-Insulator

Tabelle D.1.: Liste aller in dieser Arbeit verwendeten Symbole und Abkürzungen.
(Fortsetzung)

Literaturverzeichnis

- [1] MOORE, G. (2006) Progress in digital integrated electronics, copyright 1975 IEEE. reprinted with permission. technical digest. international electron devices meeting, IEEE, 1975, pp. 11-13. *Solid-State Circuits Newsletter, IEEE*, 20 (3), 36–37. ISSN 1098-4232.
- [2] TAUR, Y. and NING, T. H. (October 1998) *Fundamentals of Modern VLSI Devices*. Cambridge University Press. ISBN 0521559596.
- [3] CUI, Y., ZHONG, Z., WANG, D., WANG, W. U., and LIEBER, C. M. (February 2003) High performance silicon nanowire field effect transistors. *Nano Letters*, 3 (2), 149–152.
- [4] DOYLE, B., DATTA, S., DOCZY, M., HARELAND, S., JIN, B., KAVALIEROS, J., LINTON, T., MURTHY, A., RIOS, R., and CHAU, R. (2003) High performance fully-depleted tri-gate CMOS transistors. *Electron Device Letters, IEEE*, 24 (4), 263–265. ISSN 0741-3106.
- [5] MOORE, G. (1965) Cramming more components onto integrated circuits. *Electronics Magazine*. ISSN 0018-9219.
- [6] SAITO, T., SARAYA, T., INUKAI, T., MAJIMA, H., NAGUMO, T., and HIRAMOTO, T. (May 2002) Suppression of short channel effect in triangular parallel wire channel MOSFETs. *IEICE TRANSACTIONS on Electronics*, E85-C (5), 1073–1078. ISSN 0916-8516.
- [7] ITRS 2005 EDITION.. <http://www.itrs.net/Links/2005ITRS/Home2005.htm>.
- [8] JOBLING, D., SMITH, J., and WHEAL, H. (1981) Active microelectrode array to record from the mammalian central Nervous-System invitro. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 19 (5), 553–560. ISSN 0140-0118.

- [9] GROSS, G., RIESKE, E., KREUTZBERG, G., and MEYER, A. (1977) New Fixed-Array Multi-Microelectrode system designed for Long-Term monitoring of extracellular single unit Neuronal-Activity invitro. *Neuroscience Letters*, 6 (2-3), 101–105. ISSN 0304-3940.
- [10] PINE, J. (1980) Recording Action-Potentials from cultured neurons with extracellular Micro-Circuit electrodes. *Journal of Neuroscience Methods*, 2 (1), 19–31. ISSN 0165-0270.
- [11] KUPERSTEIN, M. and EICHENBAUM, H. (1985) Unit-Activity, Evoked-Potentials and slow waves in the rat hippocampus and Olfactory-Bulb recorded with a 24-Channel microelectrode. *Neuroscience*, 15 (3), 703–712. ISSN 0306-4522.
- [12] NOVAK, J. and WHEELER, B. (February 1986) Recording from the aplysia Abdominal-Ganglion with a planar microelectrode array. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 33 (2), 196–202. ISSN 0018-9294.
- [13] TAKAHASHI, K. and MATSUO, T. (1984) Integration of Multi-Microelectrode and interface circuits by silicon planar and 3-Dimensional fabrication technology. *Sensors and Actuators*, 5 (1), 89–99. ISSN 0250-6874.
- [14] DRAKE, K., WISE, K., FARRAYE, J., ANDERSON, D., and BEMENT, S. (1988) Performance of planar multisite microprobes in recording extracellular Single-Unit intracortical activity. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 35 (9), 719–732. ISSN 0018-9294.
- [15] BERGVELD, P. (1968) New amplification method for depth recording. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, BM15 (2), 102–&. ISSN 0018-9294.
- [16] WISE, K. and ANGELL, J. (1975) Low-Capacitance multielectrode probe for use in extracellular neurophysiology. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, BM22 (3), 212–219. ISSN 0018-9294.
- [17] REGEHR, W., PINE, J., COHAN, C., MISCHKE, M., and TANK, D. (November 1989) Sealing cultured invertebrate neurons to embedded dish electrodes

- p>facilitates Long-Term stimulation and recording.
- Journal of Neuroscience Methods*
- , 30 (2), 91–106. ISSN 0165-0270.
- [18] FROMHERZ, P., OFFENHÄUSSER, A., VETTER, T., and WEIS, J. (May 1991) A Neuron-Silicon junction - a retzius cell of the leech on an Insulated-Gate Field-Effect transistor. *Science*, 252 (5010), 1290–1293. ISSN 0036-8075.
 - [19] CUI, Y., WEI, Q., PARK, H., and LIEBER, C. (2001) Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species. *Science*, 293 (5533), 1289–1292. ISSN 0036-8075.
 - [20] HAHM, J. and LIEBER, C. (2004) Direct ultrasensitive electrical detection of DNA and DNA sequence variations using nanowire nanosensors. *Nano Letters*, 4 (1), 51–54. ISSN 1530-6984.
 - [21] PATOLSKY, F., ZHENG, G., HAYDEN, O., LAKADAMYALI, M., ZHUANG, X., and LIEBER, C. (2004) Electrical detection of single viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101 (39), 14017–14022. ISSN 0027-8424.
 - [22] ZHENG, G., PATOLSKY, F., CUI, Y., WANG, W., and LIEBER, C. (October 2005) Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays. *Nature Biotechnology*, 23 (10), 1294–1301. ISSN 1087-0156.
 - [23] WANG, W. U., CHEN, C., HUI LIN, K., FANG, Y., and LIEBER, C. M. (March 2005) Label-free detection of small-molecule-protein interactions by using nanowire nanosensors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (9), 3208–3212.
 - [24] KLEMIC, J., STERN, E., and REED, M. (October 2001) Hotwiring biosensors. *Nature Biotechnology*, 19 (10), 924–925. ISSN 1087-0156.
 - [25] STERN, E., VACIC, A., and REED, M. (November 2008) Semiconducting nanowire Field-Effect transistor biomolecular sensors. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 55 (11), 3119–3130. ISSN 0018-9383.

- [26] KIM, A., AH, C., YU, H., YANG, J., BAEK, I., AHN, C., PARK, C., JUN, M., and LEE, S. (2007) Ultrasensitive, label-free, and real-time immunodetection using silicon field-effect transistors. *Applied Physics Letters*, 91 (10). ISSN 0003-6951.
- [27] GAO, Z., AGARWAL, A., TRIGG, A., SINGH, N., FANG, C., TUNG, C., FAN, Y., BUDDHARAJU, K., and KONG, J. (May 2007) Silicon nanowire arrays for label-free detection of DNA. *Analytical Chemistry*, 79 (9), 3291–3297. ISSN 0003-2700.
- [28] PARK, I., LI, Z., LI, X., PISANO, A., and WILLIAMS, R. (April 2007) Towards the silicon nanowire-based sensor for intracellular biochemical detection. *Biosensors & Bioelectronics*, 22 (9-10), 2065–2070. ISSN 0956-5663.
- [29] PATOLSKY, F. (July 2007) Detection, stimulation, and inhibition of neuronal signals with high-density nanowire transistor arrays (vol 313, pg 1100, 2006). *Science*, 317 (5836), 320. ISSN 0036-8075.
- [30] FROMHERZ, P. and VOELKER, M. (March 2009) Comment on „Detection, stimulation, and inhibition of neuronal signals with High-Density nanowire transistor arrays“. *Science*, 323 (5920), 1429b.
- [31] TIMKO, B., PATOLSKY, F., and LIEBER, C. (March 2009) Response to comment on „Detection, stimulation, and inhibition of neuronal signals with High-Density nanowire transistor arrays“. *Science*, 323 (5920). ISSN 0036-8075.
- [32] PUI, T., AGARWAL, A., YE, F., BALASUBRAMANIAN, N., and CHEN, P. (2009) CMOS-Compatible nanowire sensor arrays for detection of cellular bioelectricity. *Small*, 5 (2), 208–212. ISSN 1613-6810.
- [33] TIMKO, B. P., COHEN-KARNI, T., YU, G., QING, Q., TIAN, B., and LIEBER, C. M. (February 2009) Electrical recording from hearts with flexible nanowire device arrays. *Nano Letters*, 9 (2), 914–918.
- [34] COHEN-KARNI, T., TIMKO, B. P., WEISS, L. E., and LIEBER, C. M. (May 2009) Flexible electrical recording from cells using nanowire transistor arrays. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (18), 7309–7313.

- [35] S.M.SZE (1981) *Physics of Semiconductor Devices*, volume 2nd. John Wiley & Sons, New York Chichester Brisbane Toronto Singapore. ISBN 0-471-05661-8.
- [36] BERGVELD, P. (1970) Development of an Ion-Sensitive Solid-State device for neurophysiological measurements. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, BM17 (1), 70–&. ISSN 0018-9294.
- [37] SCHINDLER, M., KIM, S. K., HWANG, C. S., SCHINDLER, C., OFFENHÄUSER, A., and INGEBRANDT, S. (2008) Novel post-process for the passivation of a CMOS biosensor. *physica status solidi (RRL) - Rapid Research Letters*, 2 (1), 4–6.
- [38] MEYBURG, S. (2005) *Transistor Arrays for the Direct Interfacing with Electrogenic Cells*. Doktorarbeit, RWTH Aachen.
- [39] BOCKRIS, J. O., REDDY, A. K., and GAMBOA-ALDECO, M. (2000) *Modern Electrochemistry*, volume 2nd. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York. ISBN 0-306-46167-6.
- [40] MATSUO, T. and ESASHI, M. (1981) Methods of isfet fabrication. *Sensors and Actuators*, 1, 77–96. ISSN 0250-6874.
- [41] JAMASB, S., COLLINS, S., and SMITH, R. L. (June 1998) A physical model for drift in pH ISFETs. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 49 (1-2), 146–155. ISSN 0925-4005.
- [42] TIETZE, U., SCHENK, C., and GAMM, E. (2000) *Halbleiter - Schaltungstechnik*. Springer-Verlag GmbH, 11., völlig neubearb. u. erw. a. edition. ISBN 3540641920.
- [43] MÜLLER, R., and HEYWANG, M. (1990) *Rauschen*, volume 2nd of *Halbleiter-Elektronik*. Springer-Verlag, Berlin; Heidelberg; New York; London; Paris; Tokyo. ISBN 3-540-51145-8.
- [44] HOOGE, F. N. (April 1969) 1/f noise is no surface effect. *Physics Letters A*, 29 (3), 139–140. ISSN 0375-9601.

- [45] HOOGE, F. N., KLEINPENNING, T. G. M., and VANDAMME, L. K. J. (1981) Experimental studies on 1/f noise. *Reports on Progress in Physics*, 44 (5), 479–532. ISSN 0034-4885.
- [46] NEMIROVSKY, A. and RON, A. (November 1997) A revised model for carrier trapping-detrapping 1/f noise. *Solid-State Electronics*, 41 (11), 1811–1818. ISSN 0038-1101.
- [47] VALENZA, M., HOFFMANN, A., SODINI, D., LAIGLE, A., MARTINEZ, F., and RIGAUD, D. (April 2004) Overview of the impact of downscaling technology on 1/f noise in p-MOSFETs to 90 nm. *IEE Proceedings - Circuits, Devices and Systems*, 151 (2), 102–110.
- [48] ALBERTS, B., BRAY, D., HOPKIN, K., JOHNSON, A., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., and WALTER, P. (April 2005) *Lehrbuch der Molekularen Zellbiologie*. Wiley-VCH, 3. vollständig überarbeitete auflage edition. ISBN 3527311602.
- [49] MESSER, W. and SZCZEPAN (2006). Wikipedia - biological cell.svg. de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Biological_cell.svg.
- [50] DHATFIELD and RUIZ, M. (2008). Wikipedia - cell membrane detailed diagram 4.svg. en.wikipedia.org/wiki/File:Cell_membrane_detailed_diagram_4.svg.
- [51] WRIGHT, S. H. (December 2004) Generation of resting membrane potential. *Advan. Physiol. Edu.*, 28 (4), 139–142.
- [52] BEZANILLA, F. (2006) The action potential: From voltage-gated conductances to molecular structures. *Biological Research*, (39), 425–435. ISSN 0716-9760.
- [53] HODGKIN, A. and HUXLEY, A. (August 1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *Journal of Physiology*, 117 (4), 500–544.
- [54] NUMBERGER, M. and DRAGUHN, A. (1996) *Patch-Clamp-Technik*. Spektrum Akademischer Verlag. ISBN 3827400236.

- [55] WEIS, R. and FROMHERZ, P. (1997) Frequency dependent signal transfer in neuron transistors. *Physical Review E*, 55 (1), 877. Copyright (C) 2009 The American Physical Society; Please report any problems to prola@aps.org.
- [56] PABST, M., WROBEL, G., INGEBRANDT, S., SOMMERHAGE, F., and OFFENHÄUSSER, A. (2007) Solution of the Poisson-Nernst-Planck equations in the cell-substrate interface. *The European Physical Journal E: Soft Matter and Biological Physics*, 24 (1), 1–8.
- [57] SCHÄTZTHAUER, R. and FROMHERZ, P. (1998) Neuron-silicon junction with voltage-gated ionic currents. *European Journal of Neuroscience*, 10 (6), 1956–1962.
- [58] CELLER, G. and CRISTOLOVEANU, S. (2003) Frontiers of silicon-on-insulator. *Journal of Applied Physics*, 93 (9), 4955–4978. ISSN 0021-8979.
- [59] ITOH, K., IWAMEJI, K., and SASAKI, Y. (1991) Fabrication of thin silicon wires by anisotropic wet etching of soi structures. *Japanese Journal of Applied Physics Part 2-Letters*, 30 (9A), L1605–L1607. ISSN 0021-4922.
- [60] HIRAMOTO, T., ISHIKURO, H., SAITO, K., FUJII, T., SARAYA, T., HASHIGUCHI, G., and IKOMA, T. (1996) Fabrication of si nanostructures for single electron device applications by anisotropic etching. *Japanese Journal of Applied Physics Part 1-Regular Papers Short Notes & Review Papers*, 35 (12B), 6664–6667. ISSN 0021-4922.
- [61] MUKAIYAMA, T., SAITO, K., ISHIKURO, H., TAKAMIYA, M., SARAYA, T., and HIRAMOTO, T. (1998) Fabrication of gate-all-around MOSFET by silicon anisotropic etching technique. *Solid-State Electronics*, 42 (7-8), 1623–1626. ISSN 0038-1101.
- [62] KUSHNER, V., PARK, K., SCHRODER, D., and THORNTON, T. (2007) Low-frequency-noise spectroscopy of SIMOX and bonded SOI wafers. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 54 (12), 3378–3382. ISSN 0018-9383.
- [63] CHOU, S., KRAUSS, P., and RENSTROM, P. (1996) Imprint lithography with 25-nanometer resolution. *Science*, 272 (5258), 85–87. ISSN 0036-8075.

- [64] LANDIS, S., CHAIX, N., GOURGON, C., PERRET, C., and LEVEDER, T. (2006) Stamp design effect on 100 nm feature size for 8 inch NanoImprint lithography. *Nanotechnology*, 17 (10), 2701–2709. ISSN 0957-4484.
- [65] SEIDEL, H., CSEPREGI, L., HEUBERGER, A., and BAUMGARTEL, H. (1990) Anisotropic etching of crystalline silicon in Alkaline-Solutions .1. orientation dependence and behavior of passivation layers. *Journal of the Electrochemical Society*, 137 (11), 3612–3626. ISSN 0013-4651.
- [66] SCHNAKENBERG, U., BENECKE, W., and LOCHEL, B. (1990) NH_4OH -Based etchants for silicon micromachining. *Sensors and Actuators A-Physical*, 23 (1-3), 1031–1035. ISSN 0924-4247.
- [67] THONG, J., CHOI, W., and CHONG, C. (1997) TMAH etching of silicon and the interaction of etching parameters. *Sensors and Actuators A-Physical*, 63 (3), 243–249. ISSN 0924-4247.
- [68] LAI, L., HEBERT, K. J., and IRENE, E. A. (1999) A study of the relationship between Si/SiO₂ interface charges and roughness. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 17 (1), 53–59.
- [69] OHMI, T. (1996) Total room temperature wet cleaning for si substrate surface. *Journal of The Electrochemical Society*, 143 (9), 2957–2964.
- [70] MISRA, D. and HEASELL, E. L. (1990) Electrical damage to silicon devices due to reactive ion etching. *Semiconductor Science and Technology*, 5 (3), 229–236. ISSN 0268-1242.
- [71] PANG, S. W., RATHMAN, D. D., SILVERSMITH, D. J., MOUNTAIN, R. W., and DEGRAFF, P. D. (June 1983) Damage induced in si by ion milling or reactive ion etching. *Journal of Applied Physics*, 54 (6), 3272–3277.
- [72] BELKACEM, A., ANDRÉ, E., OBERLIN, J., POMOT, C., PAJOT, B., and CHANTRE, A. (October 1989) Electronic defects induced in silicon by SF₆ plasma etching. *Materials Science and Engineering: B*, 4 (1-4), 451–455. ISSN 0921-5107.

- [73] SCHÄFER, S. (2008) *Electrical Characterization of the Cell-Sensor Adhesion with Transistor Transfer Function Measurements*. Diplomarbeit, Universität zu Köln.
- [74] SCHÄFER, S., EICK, S., HOFMANN, B., DUFAUX, T., STOCKMANN, R., WROBEL, G., OFFENHÄUSSER, A., and INGEBRANDT, S. (2009) Time-dependent observation of individual cellular binding events to field-effect transistors. *Biosensors and Bioelectronics*, 24 (5), 1201–1208. ISSN 0956-5663.
- [75] VU, X., STOCKMANN, R., WOLFRUM, B., OFFENHÄUSSER, A., and INGEBRANDT, S. (2009) Fabrication and application of a microfluidic-embedded sili-con nanowire biosensor chip. *physica status solidi (a)*, (submitted).
- [76] VU, X. T., ESCHERMANN, J. F., STOCKMANN, R., GHOSHMOULICK, R., OFFENHÄUSSER, A., and INGEBRANDT, S. (2009) Top-down processed silicon nanowire transistor arrays for biosensing. *physica status solidi (a)*, 206 (3), 426–434.
- [77] GAUBERT, P., TERAMOTO, A., CHENG, W., HAMADA, T., and OHMI, T. (2009) Different mechanism to explain the 1/f noise in n- and p-SOI-MOS transistors fabricated on (110) and (100) silicon-oriented wafers. In *15th WoDIM 2008 Conference*, volume 27. AVS, Berlin, Germany, 394–401.
- [78] TOITA, M., AKABOSHI, T., and IMAI, H. (2001) 1/f noise reduction in PMOSFETs by an additional preoxidation cleaning with an ammonia hydrogen peroxide mixture. *Electron Device Letters, IEEE*, 22 (11), 548–550. ISSN 0741-3106.
- [79] LI, Q., ZHU, X., YANG, Y., IOANNOU, D., XIONG, H., SUEHLE, J., and RICHTER, C. (2008) Design, fabrication and characterization of High-Performance silicon nanowire transistor. In *Nanotechnology, 2008. NANO '08. 8th IEEE Conference on*. 526–529.
- [80] ELIBOL, O. H., REDDY, J., and BASHIR, R. (May 2008) Nanoscale thickness double-gated field effect silicon sensors for sensitive pH detection in fluid. *Applied Physics Letters*, 92 (19), 193904–3.

- [81] YOO, S. K., YANG, S., and LEE, J. (2008) Hydrogen ion sensing using schottky contacted silicon nanowire FETs. *Nanotechnology, IEEE Transactions on*, 7 (6), 745–748. ISSN 1536-125X.
- [82] SPRÖSSLER, C., RICHTER, D., DENYER, M., and OFFENHÄUSSER, A. (September 1998) Long-term recording system based on field-effect transistor arrays for monitoring electrogenic cells in culture. *Biosensors and Bioelectronics*, 13 (6), 613–618. ISSN 0956-5663.
- [83] INGEBRANDT, S., YEUNG, C., KRAUSE, M., and OFFENHÄUSSER, A. (March 2005) Neuron-transistor coupling: interpretation of individual extracellular recorded signals. *European Biophysics Journal*, 34 (2), 144–154.
- [84] ANALOG DEVICES, INC. (March 2009). Datenblatt des OP97.
- [85] ICHIMURA, M., ITO, S., and ARAI, E. (April 2002) Changes in carrier profiles of bonded SOI wafers with thermal annealing measured by the spreading resistance method. *Solid-State Electronics*, 46 (4), 545–553. ISSN 0038-1101.
- [86] JAKOBSON, C., FEINSOD, M., and NEMIROVSKY, Y. (2000) Low frequency noise and drift in ion sensitive field effect transistors. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 68 (1-3), 134–139. ISSN 0925-4005.
- [87] JAKOBSON, C. and NEMIROVSKY, Y. (1999) 1/f noise in ion sensitive field effect transistors from subthreshold to saturation. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 46 (1), 259–261. ISSN 0018-9383.
- [88] TOPKAR, A. (September 1993) Effect of electrolyte exposure on silicon dioxide in electrolyte-oxide-semiconductor structures. *Thin Solid Films*, 232, 265–270.
- [89] CHEN, C. H. and DEEN, M. J. (November 1998) High frequency noise of MOSFETs i modeling. *Solid-State Electronics*, 42 (11), 2069–2081. ISSN 0038-1101.
- [90] CLAYCOMB, W. C., LANSON, N. A., STALLWORTH, B. S., EGELAND, D. B., DELCARPIO, J. B., BAHINSKI, A., and IZZO, N. J. (March 1998)

- HL-1 cells: A cardiac muscle cell line that contracts and retains phenotypic characteristics of the adult cardiomyocyte. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95 (6), 2979–2984.
- [91] SARTIANI, L., BOCHET, P., CERBAI, E., MUGELLI, A., and FISCHMEISTER, R. (November 2002) Functional expression of the hyperpolarization-activated, non-selective cation current if in immortalized HL-1 cardiomyocytes. *The Journal of Physiology*, 545 (1), 81–92.
 - [92] WHITE, S. M., CONSTANTIN, P. E., and CLAYCOMB, W. C. (March 2004) Cardiac physiology at the cellular level: use of cultured HL-1 cardiomyocytes for studies of cardiac muscle cell structure and function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 286 (3), H823–829.
 - [93] KRAUSHAAR, U., NAGEL, J., MEYER, T., and GUENTHER, E. (2008) Inhomogeneity of cell properties in the cardiomyocyte derived HL-1 cell line. In *Proceedings MEA Meeting 2008*, volume 5. BioPro Edition, Reutlingen. ISBN 3-938345-05-5, 186–187.
 - [94] PELLOUX, S., ROBILLARD, J., FERRERA, R., BILBAUT, A., OJEDA, C., SAKS, V., OVIZE, M., and TOURNEUR, Y. Non-beating HL-1 cells for confocal microscopy: Application to mitochondrial functions during cardiac preconditioning. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 90 (1-3), 270–298. ISSN 0079-6107.
 - [95] INGEBRANDT, S., YEUNG, C., KRAUSE, M., and OFFENHÄUSSER, A. (September 2001) Cardiomyocyte-transistor-hybrids for sensor application. *Biosensors and Bioelectronics*, 16 (7-8), 565–570. ISSN 0956-5663.
 - [96] ESCHERMANN, J. F., STOCKMANN, R., HUESKE, M., VU, X. T., INGEBRANDT, S., and OFFENHÄUSSER, A. (2009) Action potentials of HL-1 cells recorded with silicon nanowire transistors. *Applied Physics Letters*, 95 (8), 083703–3.
 - [97] OFFENHÄUSSER, A., SPRÖSSLER, C., MATSUZAWA, M., and KNOLL, W. (1997) Field-Effect transistor array for monitoring electrical activity from mammalian neurons in culture. *Biosensors and Bioelectronics*, 12 (8), 819–826. ISSN 0956-5663.

- [98] OFFENHÄUSSER, A., RUHE, J., and KNOLL, W. (1995) Neuronal cells cultured on modified microelectronic device surfaces. In *The 2nd biomaterials interface topical conference*, volume 13. AVS, Denver, Colorado (USA), 2606–2612.
- [99] VASSANELLI, S. and FROMHERZ, P. (April 1998) Transistor records of excitable neurons from rat brain. *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, 66 (4), 459–463.
- [100] YEUNG, C., SOMMERHAGE, F., WROBEL, G., OFFENHÄUSSER, A., CHAN, M., and INGEBRANDT, S. (April 2007) Drug profiling using planar micro-electrode arrays. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387 (8), 2673–2680.
- [101] DEETJEN, P., SPECKMANN, E., and HESCHELER, J. (2005) *Repetitorium Physiologie*. Urban & Fischer Bei Elsevier, 1 edition. ISBN 3437413155.
- [102] GRAHAM, F. L., SMILEY, J., RUSSELL, W. C., and NAIRN, R. (July 1977) Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5. *J Gen Virol*, 36 (1), 59–72.
- [103] FRINGS, S., BRULL, N., DZEJA, C., ANGELE, A., HAGEN, V., KAUPP, U. B., and BAUMANN, A. (April 1998) Characterization of ether-a-go-go channels present in photoreceptors reveals similarity to IKx, a k⁺ current in rod inner segments. *J. Gen. Physiol.*, 111 (4), 583–599.
- [104] HEKA ELEKTRONIK, GMBH (2007). Anleitung des Patch-Verstärkers EPC10.
- [105] SIGWORTH, F. J. (February 1995) Design of the EPC-9, a computer-controlled patch-clamp amplifier. 1. hardware. *Journal of Neuroscience Methods*, 56 (2), 195–202. ISSN 0165-0270.
- [106] WROBEL, G., PABST, M., SOMMERHAGE, F., SCHINDLER, M., OFFENHÄUSSER, A., and INGEBRANDT, S. (2006) Electrodiffusional model of the Cell-Sensor contact. Aachen, Poster.
- [107] OFFENHÄUSSER, A., BÖCKER-MEFFERT, S., DECKER, T., HELPENSTEIN, R., GASTEIER, P., GROLL, J., MÖLLER, M., RESKA, A., SCHÄFER, S.,

- SCHULTE, P., and VOGT-EISELE, A. (2007) Microcontact printing of proteins for neuronal cell guidance. *Soft Matter*, 3 (3), 290–298.
- [108] PATOLSKY, F., TIMKO, B., YU, G., FANG, Y., GREYTAK, A., ZHENG, G., and LIEBER, C. (2006) Detection, stimulation, and inhibition of neuronal signals with high-density nanowire transistor arrays. *Science*, 313 (5790), 1100–1104. ISSN 0036-8075.
- [109] GILLES, S. (December 2006) *Chemical Modification of Silicon Surfaces for the Application in Soft Lithography*. Diplomarbeit, Technische Universität Bergakademie Freiberg.
- [110] KERN, W. (June 1990) The evolution of silicon wafer cleaning technology. *Journal of The Electrochemical Society*, 137 (6), 1887–1892.
- [111] LAU, J. H. (December 1995) *Flip Chip Technologies*. McGraw-Hill Professional, 1 edition. ISBN 0070366098.

Danksagung

Wie bei jedem größeren Projekt, wäre die Entstehung dieser Arbeit niemals möglich gewesen ohne die Unterstützung und Hilfe Vieler. Hier finden sie alle den Platz, den sie in meiner Erinnerung ohnehin schon haben. Mein aufrichtiger Dank gilt:

Professor Dr. A. Offenhäusser für die Betreuung meiner Arbeit und die Möglichkeit, am IBN2 arbeiten zu dürfen. Danke für die fachliche und menschliche Unterstützung insbesondere in schwierigen Phasen dieses anspruchsvollen Projekts, die vielen hilfreichen Anmerkungen beim Anfertigen der Dissertation und nicht zuletzt das Vertrauen in meine Person.

Professor Dr. W. Mokwa für das Interesse an meinem Projekt, die Betreuung meiner Arbeit und das Schaffen des formalen Rahmens für meine Promotion an der Fakultät für Elektrotechnik und Informationstechnik an der RWTH Aachen.

Dr. Sven Ingebrandt für die Idee zu diesem spannenden Forschungsvorhaben, die Betreuung meiner Arbeit in den ersten beiden Jahren und die intensiven fachlichen Diskussionen in dieser Zeit. Danke auch für die Ermutigung, neue Wege zu gehen und unkonventionelle Ideen mit ungewissem Ausgang zu verfolgen.

Regina Stockmann für das prozesstechnische Know-How, das sie mir vermittelt hat, für die unzähligen Stunden, die sie mit mir oder für mich im Reinraum verbracht hat und dafür, dass sie mir ein steter Ansporn war, wann immer ein Rückschlag das Gelingen dieser Arbeit gefährdet hat.

Xuan-Thang Vu für die gute fachliche Zusammenarbeit bei der Entwicklung des „Nanowire-Prozesses“, für den vielen Spaß, den wir hatten und für das Bereitstellen von Chips für die Zellkopplungsexperimente.

Susanne Bippus für die wertvolle organisatorische Arbeit im Hintergrund.

Rita Fricke und den fleißigen Azubis für die unermüdliche Arbeit in der Zellkultur, das Bereitstellen aller benötigten Labormittel und die Unterstützung

meiner Arbeit mit dem nötigen biologischen Know-How.

Dr. Michael Pabst für die geduldige Korrektur eines Großteils meiner Dissertation, für zahlreiche Ratschläge zur Darstellung meiner Ergebnisse und viele interessante Gespräche über den reinen Inhalt der Arbeit hinaus.

Stefan Eick für die Diskussion vieler kleiner elektro- und messtechnischer Details, die Korrektur großer Teile dieser Arbeit und seine Freundschaft, die insbesondere im letzten Jahr zu vielen inspirierenden Momenten geführt hat.

Sandra Gilles für die Silanisierung meiner Molds, das Korrekturlesen des Prozessteils, das Ertragen und Kontern meiner spitzfindigen Bemerkungen und ihre Freundschaft, die mir gezeigt hat, wie wichtig es ist, ab und zu über sich selbst zu lachen.

Boris Hofmann für die Einweisung in die Chipverkapselung, deren stetige Weiterentwicklung und die zahlreichen Tipps und Tricks in Bezug auf biologische Fragestellungen und die Patch-Clamp-Technik.

Alfred Steffen für die kompetente und zuverlässige Leitung des Institutsraums, seine menschliche Art und das Vertrauen, das er mir geschenkt hat.

Stefan Trellenkamp und Andre van der Hart für das Strukturieren meiner Molds mit der Elektronenstrahl-Lithografie, die vielen Testläufe und die Hilfe bei der Optimierung dieses grundlegenden Prozessschritts.

Wilfried Michelsen für die vielen stets schnell und zuverlässig durchgeführten Implantationen meiner Substrate.

Karl-Heinz Deussen für das Abscheiden qualitativ hochwertiger Schichten zur Passivierung meiner Bauelemente.

Michael Prömpers für die vielen kleinen Hilfestellungen bei der Prozessierung meiner Chips, die ihn zu einer Art „Mädchen für Alles“ haben werden lassen. Danke auch für die Ideen, Messungen und Ratschläge, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Jürgen Müller, Jana Mohr, Hans Wogens, Stephany Bunte für das Bereitstellen aller Chemikalien und Hilfsmittel im Reinraum, das stetige Bemühen, das Arbeiten dort so sicher wie möglich zu gestalten, und das Erzeugen verschiedener Schichten im Zusammenhang mit meinen Prozessen.

Norbert Wolters für das zügige Anfertigen meiner Messelektronik, das geduldige Umsetzen meiner Änderungswünsche und die zahlreichen Ratschläge in messtechnischen Fragestellungen.

Dieter Strobel für die kompetente Beratung und das Anfertigen aller mechanischen Komponenten meines Messaufbaus.

Hans-Peter Bochem für die vielen guten REM-Aufnahmen.

Daniela Esser für die faszinierenden FIB-Präparationen, die das „Tüpfelchen auf dem I“ waren.

Dorothea Brüggemann für die Einweisung in das Fixieren von Zellen mit Glutaraldehyd.

Martin Hüske für die extrazelluläre Ableitung von HL-1 Zellen mit planaren Transistoren und die zahlreichen Diskussionen über Messtechnik und Signalverarbeitung.

Holger Neuhauf und Andreas Vossnacke für das Bereitstellen der IT-Infrastruktur und das schnelle Beheben diesbezüglicher Probleme.

Elke Brauweiler-Reuters für die Aufnahmen mit dem Rasterkraftmikroskop.

Niklas Kotman für das Bereitstellen der Abbildungen zur Chipverkapselung.

Dr. Dirk Mayer, Dr. Petra Schulte und Dr. Bernhard Wolfrum für die fachliche Betreuung als Ansprechpartner in ihrer jeweiligen Disziplin, das Organisieren der Seminare und für die vielen anderen Beiträge zu einer angenehmen Institutsatmosphäre.

Martina Hitzbleck, Christina Huck, Vanessa Maybeck, Dr. Kristin Michael, Dr. Anna Reska, Nils Sanetra, Dr. Mathias Schindler, Frank Sommerhage und all die anderen Sputtologen für den vielen Spaß miteinander und die Impulse für mein Leben.

Der Open Source Community für das Bereitstellen von kostenloser Software wie etwa L^AT_EX, THE GIMP, INKSCAPE oder ZOTERO, ohne die das alles noch viel mehr Arbeit gewesen wäre.

Meinen übrigen Freunden und Bekannten für die Balance in meinem Leben, die Unterstützung in den letzten Jahren und die Bereitschaft meine Arbeit zu korrigieren.

Meinen Eltern für ihren visionären Entschluss, schon vor über 30 Jahren den Grundstein für diese Arbeit zu legen, und für die Begleitung auf diesem langen Weg. Ihr wart immer für mich da, wenn ich Euch gebraucht habe.

1. **Methoden zur integrierten Analyse metabolischer Netzwerke unter stationären und instationären Bedingungen**
von S. A. Wahl (2008), 245 Seiten
ISBN: 978-3-89336-506-7
2. **Strukturelle Untersuchungen an membranassoziierten Proteinen: NMR-Strukturen des HIV-1 Virus Protein U (39-81) und des humanen CD4 (372-433)**
von M. Wittlich (2008), XVIII, 185 Seiten
ISBN: 978-3-89336-510-4
3. **Identifizierung von physiologischen und artifiziellen Liganden von GABARAP und Charakterisierung der resultierenden Interaktionen**
von J. Mohrlüder (2008), V, 158 Seiten
ISBN: 978-3-89336-511-1
4. **Struktur und Funktion von Transaminasen aus *Corynebacterium glutamicum***
von J. Marienhagen (2008), VI, 154 Seiten
ISBN: 978-3-89336-512-8
5. **Implementierung eines Funk-Protokolls (IEEE 802.15.4) und Entwicklung eines adaptiven Zeitsynchronisationsverfahrens für ein Netzwerk intelligenter und autarker Sensoren**
von M. Schlösser (2008), 77 Seiten
ISBN: 978-3-89336-519-7
6. **Etablierung und Optimierung der sekretorischen Gewinnung thermostabiler Lipasen in Gram-positiven Bakterien**
von H. Brundiek (2008), VIII, 154 Seiten
ISBN: 978-3-89336-520-3
7. **Visuospatial Attention: Neural Correlates and Pharmacological Modulation in Healthy Subjects and Patients with Spatial Neglect**
by S. Vossel (2008), XIV, 176 pages
ISBN: 978-3-89336-526-5
8. **Analyse des Substratspektrums der ClpCP-Protease aus *Corynebacterium glutamicum***
von J.-E. Schweitzer (2008), V, 130 Seiten
ISBN: 978-3-89336-528-9
9. **Adaptive Verfahren zur automatischen Bildverbesserung kernspintomographischer Bilddaten als Vorverarbeitung zur Segmentierung und Klassifikation individueller 3D-Regionen des Gehirns**
von J. Castellanos (2008), VI, 100 Seiten
ISBN: 978-3-89336-539-5

10. **Posttranslationale Regulation der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase in *Corynebacterium glutamicum***
von C. Schultz (2009), VII, 151 Seiten
ISBN: 978-3-89336-560-9
11. **MtrA, ein bifunktionaler Antwortregulator aus *Corynebacterium glutamicum***
von M. Brocker (2009), VI, 125 Seiten
ISBN: 978-3-89336-561-6
12. **Strukturelle Charakterisierung von GABRAP-Ligand-Interaktionen**
von Y. Thielmann (2009), 166 Seiten (getr. pag.)
ISBN: 978-3-89336-563-0
13. **Acceleration on an image reconstruction algorithm for Positron Emission Tomography using a Graphics Processing Unit**
by T. Felder (2009), 97 pages
ISBN: 978-3-89336-566-1
14. **NMR-Lösungsstruktur der Loopregion Tyr⁶⁷ - Leu⁷⁷ des visuellen Arrestins im Komplex mit photoaktiviertem Rhodopsin**
von S. Feuerstein (2009), XVI, 140 Seiten
ISBN: 978-3-89336-571-5
15. **Development of a Process for the Cleavage of a Mucin Fusion Protein by Enterokinase**
by T. Kubitzki (2009), IV, 133 pages
ISBN: 978-3-89336-575-3
16. **Children's health and RF EMF exposure**
project coord. P. Wiedemann (2009), 49 pages
ISBN: 978-3-89336-594-4
17. **Entwicklung einer Signalerfassungselektronik für eine Halbleiter-Photomultiplier (SiPM) Matrix**
von C. Parl (2009), IV, 128 Seiten
ISBN: 978-3-89336-595-1
18. **Medienorientierung biomedizinischer Forscher im internationalen Vergleich**
Die Schnittstelle von Wissenschaft & Journalismus und ihre politische Relevanz
herausg. von H. P. Peters (2009), 364 Seiten
ISBN: 978-3-89336-597-5
URN: urn:nbn:de: 0001-00542
19. **Identifizierung von Interaktionspartnern für HIV-1 Nef und ihre potentielle Relevanz bei der Entwicklung der HIV-assoziierten Demenz**
von J. Mötter (2010), VI, 172 Seiten
ISBN: 978-3-89336-604-0

20. **Biotransformationen mit Cytochrom P450 Monooxygenasen**
von D. Zehentgruber (2010), XI, 147 Seiten
ISBN: 978-3-89336-605-7
21. **Studies on central carbon metabolism and respiration of *Gluconobacter oxydans* 621H**
by T. Hanke (2010), 120 pages
ISBN: 978-3-89336-607-1
22. **Prozessentwicklung zur Produktion von 2-Keto-L-Gulonsäure, einer Vitamin C- Vorstufe**
von B. Osterath (2010), XXI, 213 Seiten
ISBN: 978-3-89336-612-5
23. **Visuell evozierte Antworten der corticalen Areale V1/V2 und V5/MT nach Schachbrettmusterumkehrreizung – Magnetenzecephalographische Untersuchungen in Kombination mit cytoarchitektonischen Wahrscheinlichkeitskarten**
von B. U. Barnikol (2010), III, 138 Seiten
ISBN: 978-3-89336-615-6
24. **Biochemische und regulatorische Analyse des TCA-Zyklus und Glyoxylat-Shunts in *Escherichia coli***
von M. Kunze (2010), 191 Seiten
ISBN: 978-3-89336-620-0
25. **Metabolomanalyse als Grundlage für ¹³C-Stoffflussanalyse und dynamischer Modellierung am Beispiel der Lysinbiosynthese**
von M. G. Wellerdiek (2010), xvi, 182 Seiten
ISBN: 978-3-89336-621-7
26. **Neue Thiamindiphosphat-abhängige Enzyme für die Synthese enantiokomplementärer 2-Hydroxyketone**
von G. Kolter (2010), IX, 168 Seiten
ISBN: 978-3-89336-626-2
27. **Genetische Analyse von Substrat-Translokase-Wechselwirkungen bei der Tat-abhängigen Proteintranslokation in *Escherichia coli***
von F. Lausberg (2010), 174 Seiten
ISBN: 978-3-89336-628-6
28. **Silicium Nanodrähte für die extrazelluläre Ableitung elektrischer Aktivität**
von J. F. Eschermann (2010), xii, 191 Seiten
ISBN: 978-3-89336-639-2

Gesundheit / Health
Band / Volume 28
ISBN 978-3-89336-639-2

